

A12

DIALOG(R) File 351:Derwent WPI
(c) 2002 Thomson Derwent. All rts. reserv.

009503191

WPI Acc No: 1993-196727/ 199324

XRAM Acc No: C93-087146

Aq. synthetic organ extracts used in the prepn. of cosmetics and pharmaceuticals - contg. aminoacid(s), peptide(s), carbohydrate and/or deriv., carboxylic acid, aliphatic and/or aromatic alcohol, nucleoside or nucleotide, etc.

Patent Assignee: RIEMSCHEIDER R (RIEM-I); SCHUELKE & MAYR GMBH (SCHU)

Inventor: RIEMSCHEIDER R

Number of Countries: 014 Number of Patents: 005

Basic Patent:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
WO 9310802	A1	19930610	WO 92DE1028	A	19921202	199324 B

Priority Applications (No Type Date): DE 4227633 A 19920818; DE 4139639 A 19911202

Cited Patents: DE 2338970; DE 2405983

Designated States (National): JP; US

Designated States (Regional): AT; BE; CH; DE; DK; ES; FR; GB; IT; LI; NL; SE

Abstract (Basic): WO 9310802 A

A synthetic aq. organ extract contains at least (a) an aminoacid component with monomeric aminoacids or aminoacid derivs.; (b) a peptide component; (c) 0.02 wt.% of a nucleobase, a nucleoside, nucleotide or nucleic acid component; (d) 0.2 wt.% of a carbohydrate and/or carbohydrate deriv. component; (e) 0.2 wt.% of a 3-6C aliphatic carboxylic acid or its salt; (f) 0.3 wt.% of an aliphatic and/or aromatic 2-7C alcohol; and opt. (g) vitamins; (h) mineral salts and/or trace elements; (i) buffer substances; and (k) preservatives, such that components (a) and (b) contain aminoacids belonging to one or more of these 3 gps.; (I) glycine, L-proline, L-hydroxyproline, L-alanine; (II) L-glutamic acid, L-aspartic acid, L-asparagine; (III) L-arginine, L-serine, L-lysine. The extract contains at least 0.2 wt.% aminoacids from gp. (I). 0.05 wt.% aminoacids from gp. (II) and 0.05 wt.% aminoacids from gp. (III); and component (d) is a sugar alcohol chosen from sorbitol, mannitol, inositol and dulcitol.

USE/ADVANTAGE - The organ extract can be used as a base for pharmaceuticals and cosmetics, e.g. fractionated spleen, blood, placenta and thymus extracts are active ingredients in pharmaceuticals and cosmetics (soaps, oils, fats, wax 112). The synthetic organ extracts of the invention have the same biochemical profile of activity as the natural extracts, but are superior in that they are free from immunogenic or pathogenic proteins and protein degradation prods.. They are also free from pyrogens. Also the use of the volatile, usually flammable and after toxic solvents necessary for the prepn. of the natural extracts is avoided. The synthetic extracts can be used to complete or replace natural extracts, esp. from placenta, thymus, blood, blood serum, spleen, liver, heart muscle, elastin, collagen, collagen amniotic fluid, umbilical cord, jellyfish, roe, and udder. The extracts can be made up into topical, subcutaneous or intramuscular forms esp. for external or internal wound healing, to strengthen the immune system, to activate cell metabolism and to treat gastroenterological diseases, esp. ulcer



A12

PCT
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁵ : A61K 35/50, 35/55	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 93/10802 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 10. Juni 1993 (10.06.93)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE92/01028 (22) Internationales Anmeldedatum: 2. Dezember 1992 (02.12.92) (30) Prioritätsdaten: P 41 39 639.1 2. Dezember 1991 (02.12.91) DE P 42 27 633.0 18. August 1992 (18.08.92) DE (71)(72) Anmelder und Erfinder: RIEMSCHEIDER, Randolph [DE/DE]; Oldenburgallee 55/56, D-1000 Berlin 19 (DE). (74) Anwälte: STOLBERG, Ulrich usw. ; Beselerstr. 4, D-2000 Hamburg 52 (DE). (81) Bestimmungsstaaten: JP, US.		Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>
(54) Title: AQUEOUS SYNTHETIC ORGAN EXTRACTS (54) Bezeichnung: WÄSSRIGE SYNTHETISCHE ORGANEXTRAKTE (57) Abstract Aqueous synthetic organ extracts are disclosed that have at least the same activity spectrum as a corresponding natural extract, as well as their use for preparing cosmetic and medicinal compositions. (57) Zusammenfassung Die Erfindung betrifft wässrige, synthetische Organextrakte, welche mindestens das jeweilige Wirkungsspektrum eines entsprechenden Naturstoffextraktes aufweisen sowie deren Verwendung zur Herstellung kosmetischer und medizinischer Präparate.		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	FR	Frankreich	MR	Mauritanien
AU	Australien	GA	Gabon	MW	Malawi
BB	Barbados	GB	Vereinigtes Königreich	NL	Niederlande
BE	Belgien	GN	Guinea	NO	Norwegen
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	NZ	Neuseeland
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	PL	Polen
BJ	Benin	IE	Irland	PT	Portugal
BR	Brasilien	IT	Italien	RO	Rumänien
CA	Kanada	JP	Japan	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SD	Sudan
CG	Kongo	KR	Republik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KZ	Kasachstan	SK	Slowakische Republik
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	SN	Senegal
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	SU	Soviet Union
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TD	Tschad
CZ	Tschechische Republik	MC	Monaco	TG	Togo
DE	Deutschland	MG	Madagaskar	UA	Ukraine
DK	Dänemark	ML	Mali	US	Vereinigte Staaten von Amerika
ES	Spanien	MN	Mongolei	VN	Vietnam
FI	Finnland				

Wäßrige synthetische Organextrakte

Die Erfindung betrifft wäßrige synthetische Organextrakte, Verfahren zu deren Herstellung sowie pharmazeutische und kosmetische Zusammensetzungen, die synthetische Organextrakte beinhalten.

Organextrakte besitzen als Grundstoffe für Pharmaka und Kosmetika eine große Bedeutung. Fraktionierte Milz-, Blut-, Placenta- und Thymusextrakte zum Beispiel werden als Wirkstoffe in Pharmaka und Kosmetika eingesetzt (Seifen - Öle - Fette - Wachse 112 (1986) 215-218), wobei sie in vielen Fällen durch niedermolekulare Zusätze ergänzt werden.

Organ-Extrakte zeichnen sich durch eine Vielzahl von Inhalts- bzw. Wirkstoffen aus, die entweder als vollständiger Extrakt oder in Form daraus isolierter Einzelsubstanzen Verwendung finden. Für Placenta-Extrakte wurden beispielsweise über 100 Komponenten nachgewiesen (vgl. *Kosmetik International* 6 (1978) 1-8). Für einen Teil bestimmter Einzelsubstanzen der Organextrakte ist die Synthese bisher nicht gelungen, zumal der dazu nötige Aufwand oft zu groß ist.

Zahlreiche Organextrakte stehen heute in mehr oder weniger naturbelassener Form zur Verfügung, wie z.B. Blutserumextrakte, Placentaextrakte, Thymusextrakte, Kollagenextrakte und Bindegewebsextrakte. Solche Präparate enthalten vielfach noch Proteine oder Protein-Abbauprodukte, die immunogene bzw. pathogene Eigenschaften aufweisen und bei regelmäßiger oder wiederholter Applikation - meistens verbunden mit sehr langen Inkubationszeiten - zu schwerwiegenden Erkrankungen führen können. Dabei wird insbesondere auf die durch unkonventionelle Viren und Prionen wie z.B. BSE verursachten Krankheitsbilder Bezug genommen. Es sind auch proteinhaltige Placentaextrakte bekannt, die sich bei der Anwendung für den Menschen als krebserregend erwiesen haben (R. Riemschneider, G. Quelle, "Carcinogenicity of Placenta Extracts?", *Fragrance Journal* Bd. 57, 10, Nr. 4, 115-122 (1982) und Bd. 57, 10, Nr. 6. 105-112 (1982)).

In der DE-PS 2 338 970 wird ein Verfahren zur Herstellung eines Placentaextraktes beschrieben, welcher frei von Lipoidbegleitstoffen und frei von Proteinen ist. Bei der Anwendung dieses Extraktes wurde jedoch eine erhebliche Beeinträchtigung des mit dem Naturstoff ursprünglich erzielten Wirkungsspektrums beobachtet.

Der "synthetische" Weg einer Kombination niedermolekularer Komponenten in Anlehnung an die in entsprechenden Naturstoffextrakten gefundenen Zusammensetzungen ist ebenfalls beschritten worden. So wird z.B. in der DE-AS 2 405 983 ein Verfahren zur Herstellung eines atmungsfördernden Präparates beschrieben, welches im wesentlichen aus niedermolekularen Komponenten sowie aus Zusätzen tierischen Ursprungs zusammengesetzt ist.

In der DE-OS 2 021 969 wird die Herstellung eiweißfreier Präparate durch Kombination verschiedener in Blutextrakten nachweisbarer Komponenten beschrieben. Obwohl hiermit das Proteinproblem behoben werden konnte, ist mit den bisherigen Vorschlägen nur eine unzureichende Annäherung an einzelne Eigenschaften von

natürlichen Organextrakten gelungen. Dies mag bei bestimmten Anwendungen wie im Bereich des Futtermittel- und Nährstoffsektors hinnehmbar sein. Insbesondere bei kosmetischen und medizinischen Anwendungen wird aber gerade ein wirksames physiologisches Aktivitätsprofil gewünscht, das mit den bisher bekannten Zusammensetzungen synthetischer oder halbsynthetischer Natur nicht oder nur unzureichend geschaffen werden konnte. Ein allgemeines und standardisierbares Konzept zum Aufbau synthetischer Organextrakte fehlte bisher.

10

Der Erfindung liegt die Aufgabe zu Grunde, synthetische Organextrakte zu schaffen, die das biochemische Wirkungsprofil von natürlichen Organextrakten mindestens erreichen, vorzugsweise jedoch noch wesentlich verbessern, andererseits aber frei sind von gegebenenfalls vorhandenen immunogenen bzw. pathogenen Proteinen und Protein-Abbauprodukten. Diese synthetischen Organextrakte sollten wesentlich einfacher und reproduzierbar herzustellen sowie in gegebenenfalls pyrogenfreier Form zugänglich sein. Insbesondere gilt dies für die Verwendung der erfindungsgemäßen synthetischen Organextrakte zur Herstellung von kosmetischen und medizinischen Formulierungen. Desweiteren soll erfindungsgemäß die Verwendung flüchtiger, meist brennbarer und oft toxischer Lösungsmittel zur Herstellung von Organextrakten vermieden werden.

25

Zur Lösung der Aufgabe werden die erfindungsgemäßen synthetischen Organextrakte gemäß Hauptanspruch vorgeschlagen, die mindestens

- 30 (a) eine Aminosäurekomponente mit monomeren Aminosäuren oder Aminosäurederivaten,
(b) eine Peptidkomponente,
(c) eine Nucleobase, ein Nucleosid-, Nucleotid- oder Nucleinsäurekomponente,
35 (d) eine Kohlenhydratkomponente und/oder eine Kohlenhydratderivatkomponente,

- (e) eine aliphatische Carbonsäure oder deren Salz mit 3 bis 6 Kohlenstoffatomen,
(f) einen aliphatischen und/oder aromatischen Alkohol mit 2 bis 7 Kohlenstoffatomen,

5

sowie gegebenenfalls

- (g) Vitamine,
(h) Mineralsalze und/oder Spurenelemente,
10 (i) Puffersubstanzen und
(k) Konservierungsstoffe

enthält und dadurch gekennzeichnet ist, daß die Aminosäurekomponente (a) und die Peptidkomponente (b) eine oder mehrere der
15 zu den Gruppen

- (I) Glycin, L-Prolin, L-Hydroxyprolin, L-Alanin,
(II) L-Glutaminsäure, L-Asparaginsäure, L-Asparagin,
(III) L-Arginin, L-Serin, L-Lysin
20

gehörenden Aminosäuren enthält, wobei sich der Extrakt zu mindestens

- 25 - 0,20 Gew.% aus Aminosäure(n) der Gruppe (I),
- 0,05 Gew.% aus Aminosäure(n) der Gruppe (II) und
- 0,05 Gew.% aus Aminosäure(n) der Gruppe (III)

zusammensetzt, und

- 30 - die Komponente (c) mit einem Anteil von mindestens 0,02 Gew.%,

- die Komponente (d), die mindestens einen Zuckeralkohol aus der Gruppe bestehend aus Sorbit, Mannit, Inosit und
35 Dulcit umfaßt, mit einem Anteil von mindestens 0,2 Gew.%,

- 5 -

- die Komponente (e) mit einem Anteil von mindestens 0,2 Gew.%, und

5 - die Komponente (f) mit einem Anteil von mindestens 0,3 Gew.%

jeweils bezogen auf den Gesamtextrakt, in der synthetischen Extraktlösung enthalten ist.

10 Es wurde überraschenderweise gefunden, daß die vorstehenden Auswahlkriterien für die Wirksamkeit eines synthetischen Organextraktes wesentlich sind. Mit einer auf diesen Kriterien aufbauenden Zusammensetzung wurde erfindungsgemäß ein generalisierbares Konzept für den Aufbau eines synthetischen Organextraktes
15 gefunden, das je nach Anwendungsrichtung nur geringfügig modifiziert zu werden braucht, um das vollständige Wirkungsprofil des jeweiligen Organextraktes natürlichen Ursprungs zu erreichen. Auf der Basis der erfindungsgemäßen Lehre liegt diese Modifizierung im Rahmen des Könnens des durchschnittlichen Fachmannes auf
20 dem einschlägigen Gebiet.

Im Gegensatz zu natürlichen Organextrakten garantieren die erfindungsgemäßen wäßrigen synthetischen Organextrakte einen gleichbleibenden, d.h. reproduzierbaren Qualitätsstandard und
25 damit ein gleichbleibendes Wirkungsprofil. Die zellatmungsaktivierenden Eigenschaften der erfindungsgemäßen wäßrigen synthetischen Organextrakte übersteigen diejenigen herkömmlicher Organextrakte.

30 Das jeweilige Wirkungsspektrum eines entsprechenden Naturstoffextraktes läßt sich mit diesem Konzept erreichen bzw. verbessern, und auf die Anwesenheit von pathogenen bzw. virulogen Proteinen wird verzichtet, sowie auf Protein-Abbauprodukte und Hormone zurückzuführende Beeinträchtigungen können vermieden
35 werden.

Die erfindungsgemäßen wäßrigen synthetischen Organextrakte zeichnen sich insbesondere durch eine Erhöhung der Zellproliferation und eine positive Beeinflussung des Keratinisierungsprozesses aus. Eine noch weiter beschleunigte Wundheilung, verbunden mit einer Förderung der Granulation sowie eine Stimulierung der Epithelisierung sind neben einer Verbesserung des Feuchtehaltevermögens der Haut (Moisturising effect), einer Normalisierung des Fettgehaltes sowie einer besseren Schutzwirkung vor Radikalen, besonders in hydrophilen inter- und intrazellulären Bereichen, als besondere Vorteile der erfindungsgemäßen synthetischen wäßrigen Organextrakte zu nennen. Die Formulierungen führen zur Durchblutungsförderung und zur allgemeinen Linderung von Hautreizungen. Es kommt somit nicht nur zur Verminderung des Erythems und zur Verbesserung der Hautregeneration beispielsweise nach Sonnenbrand, sondern es wird eine noch weitere, allgemeine Verbesserung des Hautzustandes, wie zum Beispiel Hautglättung und Geschmeidigkeit der Haut, erreicht.

Ferner bezieht sich die Erfindung auf ein vorteilhaftes Verfahren zur Herstellung dieser synthetischen Organextrakte sowie auf deren Verwendung zur Herstellung von kosmetischen und medizinischen Formulierungen, die eine wirksame Menge dieser synthetischen Organextrakte enthalten. Die medizinischen Präparate mit solchen Wirkstoffen sind insbesondere zur topischen, subkutanen und/oder intramuskulären Applikation für die Zwecke der äußeren und inneren Wundheilung, zur Stärkung des Immunsystems bzw. zur Aktivierung des Zellstoffwechsels geeignet. Gegenüber bisher bekannten Organextrakten können mit den erfindungsgemäßen wäßrigen synthetischen Organextrakten sowohl Zellstoffwechsel als auch Wundheilung in noch vorteilhafterer Weise verbessert werden. Ferner werden die erfindungsgemäßen Organextrakte bevorzugt zur Herstellung gastroenterologischer Präparate zur Behandlung von Ulcera wie Ulcus duodenum verwendet.

Bei der Herstellung der erfindungsgemäßen wäßrigen synthetischen Organextrakte kann vorteilhafterweise zum einen die Verwendung

von flüchtigen, meist brennbaren und oft toxischen Lösungsmitteln vermieden werden, zum anderen lassen sich die erfindungsgemäßen Organextrakte mit einem gleichbleibenden Qualitätsstandard herstellen, der bei herkömmlichen Extrakten nicht zuverlässig gegeben ist. Außerdem zeichnen sich die erfindungsgemäßen Organextrakte durch eine stark verbesserte Lagerfähigkeit aus. Während die erfindungsgemäßen Organextrakte vorzugsweise keine Konservierungsstoffe enthalten, lassen sich Naturextrakte im Regelfall nicht ohne Konservierungsmittel herstellen.

10

Die erfindungsgemäßen synthetischen Organextrakte sind wirksame Substitute oder Ergänzungen für eine Vielzahl von Naturstoffextrakten, insbesondere für Placenta-, Thymus-, Blut-, Blutserum-, Milz-, Leber-, Herzmuskel-, Elastin-, Kollagen-, Bindegewebs-, Amnionflüssigkeits-, Nabelschnur-, Quallen-, Rogen- und Euterextrakte sowie Kombinationen derselben.

Bevorzugt enthält der synthetische Organextrakt als wäßrige Lösung etwa 0,5 bis 50 g/l monomere Aminosäuren aus der Gruppe bestehend aus Glycin, Prolin, Hydroxyprolin, Serin, Lysin und Arginin. Im allgemeinen enthält die erfindungsgemäße Zusammensetzung Aminosäuregemische, welche geeigneterweise aus Proteinhydrolysaten bzw. Proteinpartialhydrolysaten, wie z.B. Sojabohnen-, Gluten-, Edestin- und Fibrinhydrolysaten, Hefeproteinhydrolysaten, partiell dehydratisierten Hefen und ihre Partialhydrolysate sowie Peptonen und Peptonhydrolysaten gewonnen werden. Die Konzentration der einzelnen Aminosäuren wird selbstverständlich durch ihre Löslichkeit begrenzt.

Erfindungsgemäß ist insbesondere ein hoher Anteil an Glycin, Prolin und Hydroxyprolin bevorzugt. Diese Aminosäuren sind im Kollagen in relativ großen Mengen enthalten und sie spielen hinsichtlich der Wirksamkeit der erfindungsgemäßen wäßrigen Organextrakte eine besondere Rolle. Kollagen selbst ist als vorteilhaftes Mittel zur Hautbehandlung allgemein bekannt.

Gemäß einer besonders bevorzugten Ausführungsform der Erfindung sind die monomeren Aminosäuren aus der Gruppe bestehend aus Glycin, Prolin, Serin, Lysin, Arginin und Hydroxyprolin vorzugsweise mit einem Anteil von 0,05 bis 5,0 Gew.% in der synthetisch wäßrigen Organextraktlösung enthalten.

Obwohl Histidin keine zwingende Aminosäurekomponente des erfindungsgemäßen synthetischen Organextraktes darstellt, ist seine Gegenwart besonders als Peptidaminosäure vorteilhaft, speziell dann, wenn Oligopeptide einen maßgeblichen Anteil der Peptidkomponente (b) bilden. Die Wirksamkeit von Histidin beruht möglicherweise u.a. auch auf dessen Komplexbindungsvermögen für Metallionen.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung beträgt der Gesamtanteil der freien Aminosäuren in dem fertigen Extrakt 0,2 bis 6 Gew%.

Für Komponente (b) umfaßt der Begriff "Peptid" erfindungsgemäß Oligopeptide mit bis zu 10 verknüpften Aminosäuren sowie Polypeptide mit einer Kettenlänge von bis zu 100 verknüpften Aminosäuren. Erfindungsgemäß hat sich gezeigt, daß vor allem die Oligopeptide und Polypeptide mit Aminosäuren aus den Gruppen I, II und III die wirksamsten Aktivbestandteile der Peptidkomponente (b) sind.

Vorzugsweise enthält die Komponente (b) mindestens eine der Aminosäuren ausgewählt aus Serin, Arginin, Lysin, Prolin und Hydroxyprolin, vorzugsweise mindestens 2 der Aminosäuren Serin, Arginin, Lysin, Prolin, Hydroxyprolin, Histidin. Es ist wünschenswert, daß die Peptidkomponente (b) im wesentlichen Tri- bis Hexapeptide, Salze derselben und/oder Metallkomplexe derselben aufweist. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung kann sich die Komponente (b) mindestens teilweise aus Peptonen zusammensetzen, welche aus der Gruppe bestehend aus

Sojabohnenpepton, Maispepton, Haferpepton, Hefepeptiden und/oder von partiell dehydratisierter Hefe ausgewählt sind.

- Beispiele für Peptide, welche als Peptid-Grundlage für den erfindungsgemäßen Extrakt dienen können, sind N-Acetyl-L-Ala-L-Ala, N-Acetyl-L-Ala-L-Ala-L-Ala, N-Acetyl-D-Ala-D-Glu, N-Acetyl-L-Asp-L-Glu, N-Acetyl-L-Glu-Gly, N-Acetyl-Gly-Gly, N-Acetyl-Gly-L-Leu, N-Acetyl-L-His-Gly-L-His, N-Acetyl-L-Leu-Gly, N-Acetyl-L-Met-L-Ala-L-Ser, N-Acetyl-L-Met-L-Glu, N-Acetyl-L-Phe-L-Phe, N-Acetyl-L-Phe-L-Trp, N-Acetyl-L-Phe-L-Tyr, N-Acetyl-L-Pro-L-Leu-Gly, N-Acetyl-L-Ser-Gly, N-Acetyl-L-Tyr-L-Phe, N-Acetyl-L-Tyr-L-Tyr, N-Acetyl-muramyl-L-Ala-L-isoglutamin, L-Ala-L-Ala, β -Ala- β -Ala, L-Ala-L-Ala-L-Ala, L-Ala-L-Asn, L-Ala-L-Asp, L-Ala-L-Glu, L-Ala-L-Gln, L-Ala-Gly, L-Ala-Gly-L-Ala, β -Ala-Gly-L-Ala, L-Ala-L-His, β -Ala-L-His, β -Ala-L-Leu, L-Ala-L-Leu-L-Ala, L-Ala-L-Lys, L-Ala-L-Met, L-Ala-L-Nva, L-Ala-L-Phe, β -Ala-L-Phe, L-Ala-L-Phe-L-Ala, L-Ala-L-Phe-L-Pro, L-Ala-L-Pro, L-Ala-L-Pro-L-Ala, L-Ala-L-Ser, L-Ala-L-Ser-Gly, L-Ala-L-Thr, L-Ala-L-Tyr, L-Ala-L-Tyr-L-Ala, L-Ala-L-Val, L-Ala-L-Val-L-Leu, L-Abu-L-Tyr, L-Arg-L-Asp, L-Arg-L-Glu, L-Asn-L-Val, L-Asp- β -Ala, L- β -Asp-L-Ala, L-Asp-L-Glu, L-Asp-L-Gln, L-Asp-Gly, L-Asp-L-Leu, L-Asp-L-Lys, L-Asp-L- ϵ -Lys, L-Asp-L-Phe, L-Asp-L-Trp, L-Asp-L-Val, L-Cys-Gly, L-Cys-L-Ala-L-Ala, L-Cys-Gly-Gly, L-Cys-L-Leu-L-Leu, L-Cys-L-Phe-L-Phe, L-Cys-L-Pro-L-Pro, L-Cys-L-Tyr-L-Tyr, L-Cys-L-Val-L-Val, Gly-His-Lys, L-Gln-L-Val, L-Gln-L-Ala, L- γ -Glu-L-Ala, L-Glu-L-Ala-L-Ala, L-Glu-L-Asp, L-Glu-L-Glu, L-Glu-L-Glu-L-Glu, L-Glu-Gly, L-Glu-Gly-L-Phe, L-Glu-L-Lys, L-Glu-L- ϵ -Lys, L- γ -Glu-L-Lys, L- γ -Glu-L-Met, L-Glu-L-Ser, L-Glu-L-Thr, L-Glu-L-Thr-L-Tyr, L-Glu-L-Tyr, L-Glu-L-Tyr, L-Glu-L-Val, L- γ -Glu-L-Val, L-Glu-L-Val-L-Phe, Gly-L-Ala, Gly-DL-Ala, Gly- β -Ala, Gly- β -Ala- β -Ala, Gly-L-Ala-L-Asp, Gly-L-Ala-Gly, Gly-L-Ala-L-Hyp, Gly-L-Ala-L-Leu, Gly-L-Ala-L-Phe, Gly-L-Arg, Gly-L-Asn, Gly-L-Asp, Gly-L-Glu, Gly-Gly, Gly-Gly-L-Arg, Gly-Lys-His, Gly-Ala-Pro, Gly-His-Arg, Gly-Gly-L-Cys, Gly-Gly-Gly, Gly-Gly-Gly-Ala, Gly-Gly-Gly-Gly-Ala, Gly-Gly-L-His, Gly-Gly-L-Leu, Gly-Gly-L-Pro, Gly-Gly-L-Val, Gly-L-His, Gly-L-Hyp-L-Ala,

Gly-L-Hyp-L-Ser, Gly-L-Ile, Gly-L-Met, Gly-DL-Nle, Gly-L-Phe,
Gly-L-Phe-L-Ala, Gly-L-Phe-L-Leu, Gly-L-Phe-L-Phe, Gly-L-Phe-
L-Ser, Gly-L-Pro, Gly-L-Pro-L-Ala, Gly-L-Pro-L-Hyp, Gly-L-Pro-
L-Pro, Gly-L-Ser, Gly-L-Ser-L-Ala, Gly-L-Thr, Gly-L-Trp, Gly-
5 L-Tyr-L-Ala, Gly-L-Tyr-Gly, Gly-L-Val, L-His-L-Ala, L-His-L-Arg,
L-His-L-Asp, L-His-Gly-L-Lys, L-His-L-Leu, L-His-L-Met, L-His-
D-Phe, L-His-L-Pro, L-His-L-Ser, L-His-L-Trp, L-His-L-Trp-L-Lys,
L-His-L-Tyr, L-His-L-Val, L-Hyp-Gly, L-Ile-L-Ala, L-Ile-L-Asn,
L-Ile-L-Gln, L-Ile-Gly, L-Ile-Gly-Gly, L-Ile-L-His, L-Ile-L-Ile,
10 L-Ile-L-Ile-L-Ile, L-Ile-L-Leu, L-Ile-L-Met, L-Ile-L-Phe,
L-Ile-L-Ser, L-Ile-L-Trp, L-Ile-L-Tyr, L-Ile-L-Val, L-Leu-L-Ala,
L-Leu- β -Ala, L-Leu-L-Ala-L-Pro, L-Leu-L-Asn, L-Leu-L-Asp, L-Leu-
Gly, L-Leu-Gly-Gly, L-Leu-Gly-L-Leu, L-Leu-Gly-L-Pro, L-Leu-Gly-
L-Tyr, L-Leu-L-His, L-Leu-L-Ile, L-Leu-L-Leu-L-Ala, L-Leu-L-Leu-
15 Gly, L-Leu-L-Phe, L-Leu-L-Met, L-Leu-L-Phe, L-Leu-L-Ser, L-Leu-
L-Tyr, D-Leu-L-Tyr, L-Leu-L-Val, L-Lys-L-Asp, L-Lys-L-Glu,
L-Lys-L-Pro-L-Arg, L-Lys-L-Thr-L-Tyr, L-Lys-L-Trp, L-Lys-L-Tyr,
L-Lys-L-Tyr-L-Glu, L-Lys-L-Tyr-L-Ser, L-Lys-L-Tyr-L-Thr, L-Met-
L-Ala, L-Met-L-Ala-L-Ser, L-Met-L-Asn, L-Met-L-Asp, L-Met-L-Glu,
20 L-Met-L-Gln, L-Met-Gly-Gly, L-Met-L-His, L-Met-L-His-Gly, L-Met-
L-Ile, L-Met-L-Ile-Gly, L-Met-L-Leu, L-Met-L-Leu-Gly, L-Met-L-
Met, L-Met-L-Met-L-Ala, L-Met-L-Met-L-Met, L-Met-L-Pro, L-Met-
L-Pro-Gly, L-Met-L-Ser, L-Met-L-Ser-Gly, L-Met-L-Thr, L-Met-L-
Tyr, L-Met-L-Val, L-Orn-L-Asp, L-Orn-L-Orn-L-Orn, L-Phe-L-Ala,
25 L-Phe- β -Ala, L-Phe-L-Ala-L-Asn, L-Phe-L-Arg, L-Phe-L-Glu, L-Phe-
L-Ile, L-Phe-L-Leu, L-Phe-L-Met, L-Phe-L-Phe, L-Phe-L-Phe-L-Phe,
L-Phe-L-Pro, L-Phe-L-Ser, L-Phe-L-Ser-L-Val, L-Phe-L-Trp, L-
Phe-L-Tyr, L-Phe-L-Val, Poly-L-Ala, Poly-Gly, Poly-L-Leu, Poly-
L-Val, L-Pro-L-Ala, L-Pro-L-Arg, L-Pro-L-Asn, L-Pro-L-Asp,
30 L-Pro-L-Glu, L-Pro-L-Gln, L-Pro-L-His-L-Ala, L-Pro-L-His-L-Asp,
L-Pro-L-His-L-Glu, L-Pro-L-His-Gly, L-Pro-L-His-L-Leu, L-Pro-L-
His-L-Phe, L-Pro-L-His-L-Tyr, L-Pro-L-His-L-Val, L-Pro-L-Hyp,
L-Pro-L-Ile, L-Pro-L-Leu, L-Pro-L-Met, L-Pro-L-Phe,
L-Pro-L-Phe-L-Asp, L-Pro-L-Ser, L-Pro-L-Trp, L-Pro-L-Tyr,
35 L-Pro-L-Tyr-L-Ala, L-Pro-L-Val, Sarcosyl-L-Ala, Sarcosyl-L-Asp,
Sarcosyl-Gly, Sarcosyl-Gly-Gly, Sarcosyl-L-Ile, Sarcosyl-L-Leu,

- Sarcosyl-L-Met, Sarcosyl-L-Ser, Sarcosyl-L-Trp, Sarcosyl-L-Tyr, Sarcosyl-L-Val, L-Ser-L-Ala, L-Ser- β -Ala, L-Ser-L-Asp, L-Ser-L-Glu-Gly, L-Ser-Gly, L-Ser-Gly-Gly, L-Ser-L-His, L-Ser-L-Leu, L-Ser-L-Leu-L-Leu, L-Ser-L-Met, L-Ser-L-Phe, L-Ser-L-Pro, L-Ser-L-Ser, L-Ser-L-Ser-L-Ser, L-Ser-L-Tyr, L-Ser-L-Tyr-L-Lys, N-Succinyl-L-Ala-L-Ala-L-Val, N-Succinyl-L-Pro, L-Thr-L-Ala, L-Thr- β -Ala, L-Thr-L-Arg, L-Thr-L-Asn, L-Thr-L-Asp, L-Thr-L-Gln, L-Thr-Gly, L-Thr-Gly-Gly, L-Thr-L-Leu, L-Thr-L-Met, L-Thr-L-Pro-L-Lys, L-Thr-L-Ser, L-Thr-L-Tyr-L-Lys, L-Trp-L-Ala, L-Trp-L-Asp, L-Trp-L-Glu, L-Trp-Gly, L-Trp-Gly-L-Tyr, L-Trp-L-Leu, L-Trp-L-Pro, L-Trp-L-Ser, L-Trp-L-Trp, L-Trp-L-Trp-L-Trp, L-Trp-L-Tyr, L-Trp-L-Val, L-Tyr-L-Ala, L-Tyr-L-Ala-L-Phe, L-Tyr-L-Glu, L-Tyr-L-Gln, L-Tyr-L-Glu-L-Trp, L-Tyr-Gly, L-Tyr-Gly-L-Trp, L-Tyr-L-His, L-Tyr-L-Ile, L-Tyr-L-Leu, L-Tyr-L-Lys, L-Tyr-L-Lys-L-Thr, L-Tyr-L-Lys-L-Trp, L-Tyr-L-Phe, L-Tyr-L-Pro, L-Tyr-L-Thr-L-Leu, L-Tyr-L-Thr-L-Lys, L-Tyr-L-Trp, L-Tyr-L-Tyr, L-Tyr-L-Tyr-L-Leu, L-Tyr-L-Tyr-L-Phe, L-Tyr-L-Val, L-Tyr-L-Val, L-Val-L-Ala, L-Val- β -Ala, L-Val-L-Arg, L-Val-L-Asn, L-Val-L-Asp, L-Val-L-Glu, L-Val-Gly, L-Val-Gly-Gly, L-Val-L-Ile, L-Val-L-Leu, L-Val-L-Leu-L-Ser, L-Val-L-Lys, L-Val-L-Met, L-Val-L-Nle, L-Val-L-Phe, L-Val-L-Pro, L-Val-L-Pro-L-Leu, L-Val-L-Ser, L-Val-L-Trp-L-Ile, L-Val-L-Tyr, L-Val-L-Tyr-L-Pro, L-Val-L-Tyr-L-Val, L-Val-L-Val, L-Val-L-Val-L-Glu, L-Val-L-Val-L-Gln, L-Val-L-Val-Gly, L-Val-L-Val-L-Phe, L-Val-L-Val-L-Tyr,
- 25 sowie die Oligopeptide
- N-Acetyl-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu, N-Acetyl-Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu, N-Acetyl-Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu-Leu-Val-Tyr-Ser, N-Acetyl-His-His-Gly-His, N-Acetyl-Pro- β -Ala-Pro- β -Ala-Pro- β -Ala-Pro- β -Ala, Ala-Ala-Ala-Ala-Glu-Glu-Glu, Ala-Ala-Ala-Ala-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu, Ala-Ala-Ala-Ala-Tyr-Ala, Ala-Ala-Ala-Pro-Ala, Ala-Ala-Ala-Pro-Ala-Ala, Ala-Ala-Ala-Tyr-Ala, Ala-Ala-Ala-Tyr-Ala-Ala, Ala-Ala-Pro-Ala, Ala-Ala-Pro-Ala-Ala, Ala-Ala-Pro-Tyr-Ala, Ala-Ala-Tyr-Ala, Ala-Ala-Tyr-Ala-Ala, Ala-Arg-Pro-Ala-Lys, β -Ala-Arg-Ser-Ala-Pro-Thr-Pro-Met-Ser-Pro-Tyr, Ala-Gly-Gly-Asp-Ala-Ser-Gly-Gly, Ala-Gly-Gly-Gly, Ala-Gly-Gly-Gly-Gly, Ala-Leu-Ala-Gly, Ala-Leu-Ala-Leu, Ala-Pro-

Arg-Val-Asp, L-Ala-L-Pro-L-Phe, Ala-Pro-Tyr-Ala, Ala-Ser-His-
Leu-Gly-Leu-Ala-Arg, Arg-Arg-Gly-Asp-Met-Glu, Arg-Gly-Phe-Phe,
Arg-Gly-Pro-Phe-Pro-Ile, Arg-Gly-Tyr-Ala-Leu-Gly, Arg-Gly-Val-
Phe-Arg, Arg-Gly-Val-Phe-Arg-Arg, Arg-Tyr-Leu-Gly-Tyr-Leu, Arg-
5 Tyr-Leu-Gly-Tyr-Leu-Glu, Asp-Ala-His-Lys, Asp-Ala-Ser-Gly-Glu,
Asp-Ser-Asp-Pro-Arg, Asp-Tyr-Met-Gly, Gly-Arg-Gly-Asp, Gly-Gly-
Phe-Leu, Gly-Gly-Phe-Met, Ala-Gly-Ser-Glu, Val-Gly-Asp-Glu, Val-
Gly-Ser-Glu, Glu-Pro-Glu-Thr, Gly-Gln-Pro-Arg, Gly-Gly-Asp-Ala,
Gly-Gly-Asp-Ala-Ser-Gly-Glu, Gly-Gly-Gln-Ala, Gly-Gly-Glu-Ala,
10 Gly-Gly-Gly-Ser, Gly-Gly-His-Ala, Gly-Gly-His-Gly, Gly-Gly-Pro-
Ala, Gly-Gly-L-Trp, Gly-Gly-Trp-Ala, Gly-Leu-Gly-Leu, Gly-Leu-
Leu-Gly, Gly-Pro-Gly-Gly, Gly-Trp-Gly-Gly, Leu-Leu-Val-Phe, Leu-
Leu-Val-Tyr, Leu-Trp-Met-Arg, Leu-Trp-Met-Arg-Phe, Lys-Ala-Phe-
Gly, Lys-Glu-Thr-Tyr-Ser-Lys, Lys-Val-Glu-Gln-Glu-Gly-Tyr, Met-
15 Cys-Glu-Lys, Met-Gly-Met-Met, Phe-Gln-Gly-Pro, Phe-Gly-Gly-Phe,
Phe-Gly-Phe-Gly, Phe-Leu-Glu-Glu-Ile, Phe-Leu-Glu-Glu-Leu, Phe-
Leu-Glu-Glu-Val, Phe-Met-Leu-Pro, Pro-Glu-Pro-Glu-Thr, Pro-Leu-
Gly-Gly, Pro-Lys-Lys-Ala-Thr-Glu-Leu-Lys, Ser-Tyr-Ser-Met, Ser-
Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly, Thr-Pro-Arg-Lys, Thr-Tyr-
20 Ser-Lys, Trp-Gly-Gly-Gly-Tyr, Trp-Gly-Gly-Tyr, Trp-Pro-Pro-Pro-
Tyr, Trp-Pro-Pro-Tyr, Tyr-Asp-Asp-Val-Glu-Ser-Asp-Gly-Ala-Val,
Tyr-Glu-Glu-Trp, Tyr-Lys-Lys-Gly-Glu, Tyr-Pro-Phe-Pro, Tyr-Pro-
Pro-Glu-Pro-Glu-Thr, Val-Ala-Ala-Phe, Val-His-Leu-Thr-Pro, Val-
Leu-Ser-Glu-Gly, Val-Tyr-Ile-His-Pro.

25

Ferner sind Oligo-Alanine mit 2 bis 10 Alaninmolekülen, Oligo-
Valine, Oligo-Glycine, Oligo-Phenylalanine und Oligo-Proline mit
jeweils 2 bis 6 Aminosäuren als Bestandteile der Peptidgrundlage
geeignet, wobei beispielsweise die C-terminalen Positionen die-
30 ser Homo-Oligopeptide mit heterologen Aminosäuren wie Glutamin-
säure, Tyrosin, Lysin oder jeweils einer der oben genannten
Aminosäuren besetzt sein können. Ferner können diese Oligopepti-
de in N-terminaler Position acetyliert sein.

35 Bei der Herstellung von synthetischen Placentaextrakten haben
sich insbesondere die Peptidfragmente Gly-His-Lys, Gly-His-Pro

und Glutathion sowie Arg-Gly-Asp-Ser, Gly-Arg-Gly-Asp, Gly-Arg-Gly-Asp-Ser, Gly-Arg-Gly-Asp-Ser-Pro, Gly-Arg-Gly-Asp-Ser-Pro-Lys und Gly-Arg-Gly-Asp-Thr-Pro als vorteilhaft erwiesen.

- 5 Bei der Herstellung eines kombinierten synthetischen Serum-/Placentaextraktes werden bevorzugt die Peptidfragmente Arg-Gly-Val-Phe-Arg-Arg, Arg-Gly-Val-Phe-Pro, Arg-Gly-Val-Phe-Ser, Arg-Gly-Phe-Arg, Arg-Gly-Val-Phe-Pro, Arg-Gly-Val-Phe-Arg-Val-Arg und Arg-Gly-Val-Phe-Arg-Pro verwendet.

10

Bei der Herstellung von synthetischen Thymusextrakten werden bevorzugt die Peptidfragmente Gly-Pro-His, Gly-Lys-His, Gly-His-Lys, Gly-Ala-His, Glutathion, Gly-Pro-Hyp, Gly-Val-His, Gly-His-Pro, sowie Gly-His-His-Gly-His-Lys, Gly-Pro-Hyp-Gly-His-Val und

- 15 Gly-Pro-His-Gly-Pro-His verwendet.

Kollagene und Elastine werden in der Kosmetik seit vielen Jahren verwendet. Es hat sich gezeigt, daß sich einzelne, ausgewählte Oligopeptide, die in der Sequenz von Proteinen wie z.B. Kollagenen, Elastinen, Keratinen, und Fibronektinen vorkommen, und die

- 20 synthetisch erhältlich sind, für die Wirkung der erfindungsgemäßen synthetischen wäßrigen Organextrakte besonders eignen.

Das in der Kollagensequenz enthaltene Tripeptid Glycyl-L-Histidyl-L-Lysin hat sich als besonders vorteilhaft erwiesen, da es in Fibroblasten-Kulturen die Kollagensynthese stimuliert und eine wichtige Rolle bei der Wundheilung spielt.

- 25

Die Peptidkomponente (b) kann zwar ausschließlich von synthetischen Peptiden gebildet werden. Es wird jedoch bevorzugt, daß die Peptide zumindest teilweise durch schonende Hydrolyse oder Partialhydrolyse von höheren Peptiden oder Proteinen mittels Mineralsäuren, Natronlauge und/oder Enzymen, und gegebenenfalls nach Selektion durch Ultrafiltration, gewonnen werden. In diesen

- 30
35 Fällen ist jedoch stets darauf zu achten, daß keine immunogenen

bzw. pathogenen Proteine und Proteinabbauprodukte sowie insbesondere keine unkonventionellen Viren und Prionen bzw. deren Proteinbestandteile in den synthetischen Organextraktansatz gelangen.

5

Nach einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung setzt sich die Peptidkomponente (b) mindestens teilweise aus Peptonen zusammen, welche aus der Gruppe bestehend aus Gelatinepepton, Sojabohnenpepton, Maispepton, Haferpepton, Fischpepton, Fisch-

10 kollagen, Quallenkollagen, Säuretierkollagen, Kollagenpepton, Caseinpepton, Hefepeptiden und/oder von einer partiell dehydratisierten Hefe mit einem Wassergehalt von 60 bis 80% ausgewählt sind. Weiterhin ist es bevorzugt, daß der synthetische Organextrakt zusätzlich Albumin enthält.

15

In einem erfindungsgemäß bevorzugten synthetischen Organextrakt setzt sich die Komponente (b) mindestens teilweise aus Peptonen zusammen, welche aus der Gruppe bestehend aus Sojabohnenpepton, Maispepton, Haferpepton, Hefepeptiden und/oder von partiell

20 dehydratisierter Hefe ausgewählt sind.

Die Dominanz der vorstehend diskutierten Aminosäuren bedeutet im Hinblick auf die Zusammensetzung der erfindungsgemäßen synthetischen Extrakte, daß die Komponente (b) bestimmte Aminosäuren wie

25 z.B. Serin, Arginin, Lysin, Prolin und/oder Hydroxyprolin in Mengen enthält, die weit über dem Gehalt dieser Aminosäuren in dem entsprechenden Naturextrakt liegen, d.h. in einer 2- bis 15-fachen Menge. Insbesondere bei der Peptidkomponente (b) und speziell bei den in ihr enthaltenen Oligopeptiden hat sich ge-

30 zeigt, daß Peptide, die mindestens zwei der Aminosäuren Serin, Arginin, Lysin, Prolin, Hydroxyprolin und Histidin aufweisen, besonders aktiv sind.

Andere Aminosäuren können in monomerer und/oder petidgebundener

35 Form anwesend und beispielsweise aus der folgenden Zusammenstellung ausgewählt sein.

Geeignete Aminosäuren und Aminosäurederivate sind Asparagin, Asparaginsäure, Cystein, Cystin, Glutaminsäure, Glutamin, alpha-Alanin, beta-Alanin, Arginin, Glycin, Histidin, delta-Hydroxylysine, Hydroxyproline, Leucin, Isoleucin, Lysin, Methionin, Norleucin, Phenylalanin, Prolin, Serin, Threonin, Tryptophan, Tyrosin, Valin, alpha-Aminoadipinsäure, alpha-Aminobuttersäure (normal), gamma-Amino-n-buttersäure, beta-Aminoisobuttersäure, delta-Aminolävulinsäure, Carbamylasparaginsäure, Citrullin, Kreatin, Kreatinin, Cystathionin, Cysteinsäure, Ergothionein (Betain des Thiolhistidins), Glycocyamin (Guinidinessigsäure), Homoserin, Ornithin, Taurin, Djenkolsäure (Cysteinthioformacetal), Guanidinsalze, Ornithursäure, Phenacetursäure, Hippursäure, Harnstoff, N-Acetyl-L-alanin, N-Acetyl-L-arginin, N-Acetyl-glycin, N-Acetyl-L-hydroxyprolin, N-Acetyl-L-isoasparagin, N-Acetyl-L-isoleucin, N-Acetyl-L-leucin, N-Acetyl-L-lysin, N-Acetyl-L-methionin, N-Acetylmuraminsäure, N-Acetyl-L-ornithin, N-Acetyl-L-phenylalanin, N-Acetyl-L-prolin, O-Acetyl-L-serin, N-Acetyl-L-threonin, N-Acetyl-L-tryptophan, N-Acetyl-L-valin, L-allo-Isoleucin, L-allo-Threonin, N-Benzoyl-D-alanin, N-Benzoyl-L-arginin, N-Benzoyl-L-histidin, N-Benzoyl-L-lysin, N-Benzoyl-L-methionin, N-Benzoyl-L-ornithin, N-Benzoyl-L-phenylalanin, N-Benzoyl-L-tryptophan, N-Benzoyl-L-valin, S-Benzoyl-L-cystein, O-Benzoyl-L-serin, O-Benzoyl-L-tyrosin, L-Carnosin (β -Alanyl-L-histidin), N,O-Diacetyl-L-threonin, O-Phospho-L-serin, O-Phospho-D-serin.

Gemäß einer besonders bevorzugten Ausführungsform der Erfindung enthält die Komponente (b) im wesentlichen Tri- bis Hexapeptide, Salze und/oder Metallkomplexe derselben. Vorzugsweise beträgt der Gesamtanteil der Peptidkomponente (b) 0,1 bis 6 Gew.%, bezogen auf den Gesamtextrakt.

Vorteilhaft ist, wenn der erfindungsgemäße synthetische Organextrakt neben den Aminosäuren und Peptiden noch eine zusätzliche Stickstoffquelle enthält. Hierzu gehören insbesondere Harnstoff, Cysteamin und N-Methylglucamin. In manchen Fällen ist auch die

Anwesenheit von Kreatinin günstig, vorzugsweise in einer Menge von 0,001 bis 0,005 Gew. %.

Die Komponente (c) umfaßt Purin- und Pyrimidinbasen (Nucleobasen), Nucleostide, Nucleotide sowie deren Derivate und Nucleinsäuren.

Beispiele für geeignete Verbindungen aus dieser Gruppe sind 2-Aminopurin, Hypoxanthin, 1-Methylhypoxanthin, Adenin, 2-Methyladenin, 6-Methylaminopurin, Guanin, 1-Methylguanin, 7-Methylguanin, 2-Methylamino-6-oxodihydropurin, 8-Hydroxyguanin, Isoguanin, 2,6-Diaminopurin, Xanthin, 1-Methylxanthin, 3-Methylxanthin, 7-Methylxanthin, 3,9-Dimethylxanthin, Harnsäure, 1-Methylharnsäure, 9-Methylharnsäure, 1,9-Dimethylharnsäure, 3,7-Dimethylharnsäure, 1,3,7-Trimethylharnsäure, Adenosin, 3'-Amino-3'-desoxy-adenosin, 9- β -D-Ribofuranosyl-6-methylaminopurin, 2'-Desoxyinosin, 2'-Adenylsäure, 3'-Adenylsäure, 5'-Adenylsäure, Adenosin-5'-diphosphorsäure, Adenosin-5'-triphosphorsäure, Desoxyadenylsäure, 2'-Desoxyadenosin-5'-triphosphat, N-Succinyladenylsäure, 3'-Guanylsäure, Guanosin-5'-diphosphorsäure, Guanosin-5'-triphosphorsäure, Inosin-3'-phosphorsäure, Inosin-5'-phosphorsäure, Inosin-5'-diphosphorsäure, Xanthylsäure, Xanthosin-5'-monophosphorsäure, Guanosindiphosphat-mannose, Guanosindiphosphat-fructose, Guanosindiphosphat-fucose, Diphosphopyridinnucleotid, Triphosphopyridinnucleotid u.a., Cytosin, 5-Methylcytosin, 5-Hydroxymethylcytosin, Cytimidin, Thymin, Uracil, Willardiin, 5-Aminouracil, 4,5-Dihydrouracil, 4-Aminouracil, Uridin, 4,5-Dihydrouridin, 2'-Desoxyuridin, 5-Methyluridin, Pseudouridin, Orotidin, Cytidin, 2'-Desoxycytidin, 5-Methylcytidin, Thymidin, a-Thymidin, Cytidin-2'-monophosphat, Cytidin-3'-monophosphat, Cytidin-5'-monophosphat, Cytidin-5'-diphosphat, Uridin-2'-monophosphat, Uridin-3'-monophosphat, Uridin-5'-monophosphat, Uridin-5'-diphosphat, 5-Methylcytidin-3'-monophosphat, Orotidin-5'-monophosphat, Thymidin-5'-monophosphat, Thymidin-5'-triphosphat, 2'-Desoxycytidin-5'-monophosphat, 2'-Desoxycytidin-5'-diphosphat, Uridindiphosphat-glucose, Uridindiphosphat-

galaktose, Uridindiphosphat-arabinose, Uridindiphosphat-xylose, Uridindiphosphat-glucuronsäure, Uridindiphosphat-N-acetylgalaktosamin, Cytidindiphosphat-a-glycerin, Cytidindiphosphat-ribitol, cycl. AMP, cycl. GMP u.a.

5

Als Komponente (c) werden bevorzugt Inosin, Adenin, Adenosin, Guanosin, cycl. AMP und/oder AMP eingesetzt, wobei deren Gesamtmenge in einer wäßrigen Endlösung des synthetischen Gesamtextraktes 0,001 bis 0,25 Gew% betragen kann.

10

Als weitere wesentliche Komponente (d) der erfindungsgemäßen synthetischen Organextrakte ist mindestens ein Kohlenhydrat und/oder Kohlenhydratderivat enthalten, wobei die Komponente (d) mindestens einen Zuckeralkohol aus der Gruppe bestehend aus Sorbit, Mannit, Inosit und Dulcit in einer Menge von mindestens 0,2 Gew%, bezogen auf das Endprodukt, umfaßt.

15

Beispiele für andere geeignete Verbindungen der Gruppe (d) sind Dihydroxyaceton, Dihydroxyacetonphosphate, D-Glycerinaldehyd,

20

D-Glycerinaldehyd-3-phosphat, D-Erythrose, β -D-Arabinose, D,L-Arabinose, 2-Desoxy-D-ribose (Desoxyarabinose), L-Fructose (6-Desoxy-L-galactose), L-Rhamnose (6-Desoxy-L-mannose), D-Ribose, D-Ribulose, D-Xylulose, L-Xylulose, D-Fructose, D-Galactose, D-Galactosamin (2-Amino-2-desoxy-D-galactose), N-Acetyl-D-galac-

25

tosamin, D-Glucose, D-Glucosamin, N-Acetyl-D-glucosamin, N-Methyl-L-glucosamin, D-Mannose, D-Seduheptulose, L-Glycerin-1-phosphat, L-Glycerinsäure-2-phosphat, D-Glycerinsäure-3-phosphat, D-Glycerinsäure-1,3-diphosphat, D-Glycerinsäure-2,3-diphosphat, Phosphoenolbrenztraubensäure, D-Erythrose-4-phosphat,

30

L-Erythrulose-1-phosphat, alpha-D-Ribose-1-phosphat, D-Ribose-5-phosphat, Desoxyribose-1-phosphat, D-Ribulose-5-phosphat, D-Xylulose-5-phosphat, D-Fructose-1-phosphat, D-Fructose-6-phosphat, D-Fructose-1,6-diphosphat, alpha-D-Galactose-1-phosphat, D-Galactosamin-1-phosphat, N-Methylgalactosamin, N-Methylglucosamin,

35

alpha-D-Glucose-1-phosphat, D-Glucose-6-phosphat, β -D-Glucose-1,6-diphosphat, D-Glucosamin-6-phosphat, D-Gluconsäure-6-phos-

phat, D-Mannose-6-phosphat, D-Seduheptulose-7-phosphat, D-Seduheptulose-1,7-diphosphat, Lactosephosphat, Cellobiose, Maltose, Saccharose, Lactose, Fucosidolactose, Gentiobiose, Trehalose, Disacchararid aus Glucuronsäure und N-Acetylglucosamin.

5

Von diesen Kohlenhydraten und Derivaten werden Glucose, Invertzucker, D-Mannose, D-Ribulose, L-Erythrulose-1-phosphat, D-Fructose-6-phosphat, D,L-Arabinose und die N-Methylhexosamine bevorzugt verwendet.

10

Die Kohlenhydrate können als Einzelverbindungen oder als Gemische von Kohlenhydraten, wie z.B. als Hydrolysate von Melassen, Stärken, Glykogen, Inulin, Agar-Agar und Alginaten eingesetzt werden.

15

Zu den Kohlenhydratderivaten gehören neben den Zuckeralkoholen auch die Oxidationsprodukte von Kohlenhydraten, wie D-Glycerinsäure, Isoascorbinsäure, L-Ascorbinsäure, Dehydroascorbinsäure, 2,3-Diketogluconsäure, D-Gluconsäure, alpha-D-Galacturonsäure, 20 β -D-Glucuronsäure, D-Iduronsäure, Zuckersäure, die Dicarbonsäure der Mannose und Galactose, wobei L-Ascorbinsäure, D-Glycerinsäure und D-Iduronsäure besonders bevorzugt sind.

Der Bedeutung der genannten Zuckeralkohole entsprechend kann in 25 bevorzugten synthetischen Organextraktzusammensetzungen die Kohlenhydratkomponente (d) Sorbit und/oder Mannit in einer Menge enthalten, die einem Vielfachen des in dem vergleichbaren natürlichen Organextrakt vorkommenden Gesamtkohlenhydratgehaltes entspricht. Dieses Vielfache kann bis zu einem Faktor von 100 30 reichen.

Ein Anteil an Komponente (d), insbesondere an Hexiten von 0,2 bis zu 8 Gew.% hat sich als vorteilhaft erwiesen.

35 Aliphatische Carbonsäuren mit 3 bis 6 Kohlenstoffatomen bilden die Komponente (e) des erfindungsgemäßen synthetischen Organ-

extraktes. Verbindungen aus dieser Gruppe sind in lebenden Zellen nachweisbar. Hierzu gehören Milchsäure, Äpfelsäure, Bernsteinsäure, alpha-Ketoglutarinsäure, Citronensäure, iso-Citronensäure, cis-Aconitsäure, Fumarsäure, Oxalessigsäure, die Weinsäuren, Brenztraubensäure, Mevalonsäure, Acetessigsäure, β -Hydroxybuttersäure und Orotsäure. Bevorzugt werden Citronensäure, Bernsteinsäure, Milchsäure, alpha-Ketoglutarinsäure, cis-Aconitsäure und Brenztraubensäure. In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung wird dem synthetischen Organextrakt Bernsteinsäure und/oder Äpfelsäure mit einem Anteil von 0,02 bis 1,5 Gew.% zugesetzt. Neben Bernsteinsäure wird auch durch Citronensäure die Radikalfängerwirkung von Tocopherolen positiv beeinflusst.

Die Alkoholkomponente (f) des erfindungsgemäßen synthetischen Organextraktes umfaßt nichttoxische aliphatische und/oder aromatische Alkohole mit 2 bis 7 Kohlenstoffatomen, wie Ethanol, Butanol, Glycerin und Benzylalkohol. Benzylalkohol kann allein oder in Kombination mit weiteren Alkoholen aus Gruppe (f) verwendet werden. Die Alkoholmenge beträgt mindestens 0,3 Gew.%. Der verwendete Benzylalkohol kann in geeigneter Weise als Lösungsvermittler zur Herstellung der erfindungsgemäßen Organextrakte dienen.

Erfindungsgemäß bevorzugte Alkohole sind Benzylalkohol, Glycerin und Ethanol.

Neben den vorstehend erläuterten wesentlichen Komponenten des erfindungsgemäßen Präparats können gegebenenfalls noch Vitamine wie beispielsweise D-Panthenol, Mineralsalze und/oder Spurenelemente sowie Puffersubstanzen und Konservierungsstoffe enthalten sein, wobei deren Mengen im üblichen Rahmen liegen. Die gegenüber natürlichen Extrakten größere Pufferkapazität der erfindungsgemäßen synthetischen Organextrakte wird neben den obengenannten Aminosäuren außerdem vorteilhafterweise durch die Verwendung bestimmter Säuren wie Citronensäure und Milchsäure bestimmt, wobei der pH-Wert der Lösung auf etwa 4,0 bis 7,0 ein-

gestellt bzw. dieser Wert aufrechterhalten wird. Für Panthenolhaltige synthetische Organextrakte liegt der pH-Wert im unteren Teil des angegebenen Bereichs.

- 5 Der erfindungsgemäße synthetische Organextrakt kann üblicherweise verwendete Konservierungsmittel enthalten; vorzugsweise ist er jedoch frei von derartigen Mitteln.
- 10 Die Verwendung von Ascorbinsäure bzw. Ascorbat ist für den erfindungsgemäßen synthetisch wäßrigen Organextrakt von besonderer Bedeutung. Schon kleine Mengen zeigen bei pH 6,5 - 6,8 Radikalfängereigenschaften und sind hinsichtlich der Stabilität solcher Organextrakte von Vorteil. In diesem Zusammenhang haben sich
- 15 auch Tocopherolsuccinat, -acetat und -nicotinat als besonders vorteilhaft erwiesen. Die Wirkung von Tocopherolen wird durch kleine Mengen Citronen- oder Bernsteinsäure positiv unterstützt. Auch sind geringe Mengen 2-Thioxanthin als Radikalfänger für die erfindungsgemäßen Organextrakte geeignet.
- 20 Erfindungsgemäß ist es auch möglich, daß mindestens ein Teil der Komponenten von einem entsprechenden dialysierten entproteinisierten Organextrakt-Hydrolysat gebildet wird, insbesondere von solchen Organextrakt-Hydrolysaten, deren synthetisches Gegenstück
- 25 angestrebt wird. In diesem Fall dient die erfindungsgemäße Präparation als Supplement des jeweiligen Naturstoffextraktes.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform betrifft die Erfindung einen synthetischen wäßrigen Organextrakt worin die Aminosäurekomponente (a) und die Peptidkomponente (b) etwa

30

- 0,2 bis 0,7 Gew.% Aminosäuren der Gruppe (I),
- 0,05 bis 0,15 Gew.% Aminosäuren der Gruppe (II) und
- 0,10 bis 0,20 Gew.% Aminosäuren der Gruppe (III)

35

umfassen und

- die Komponente (c) mit einem Anteil von 0,02 bis 0,06 Gew.%,
 - 5 - die Komponente (d) mit einem Gesamtanteil an Sorbit, Mannit und Inosit von 0,2 bis 0,5 Gew.%,
 - die Komponente (e) mit einem Anteil von 0,2 bis 0,7 Gew.% und
 - 10 - die Komponente (f) mit einem Anteil von 0,3 bis 0,7 Gew.%
- jeweils bezogen auf den Gesamtextrakt in der synthetischen Extraktlösung enthalten ist.
- 15 Gemäß einer besonders bevorzugten Ausführungsform der Erfindung wird der synthetische wäßrige Organextrakt modifiziert, indem in dem zuvor genannten Extrakt die Menge der Aminosäuren der Gruppe (I) auf 2 bis 6 Gew.% und die Menge der Komponente (d) auf 3 bis 8 Gew.% erhöht werden, wobei die Mengen der übrigen Bestandteile
- 20 unverändert bleiben. Ferner kann als Vitaminkomponente (g) D-Panthenol in einer Menge von bis zu 50 Gew.%, insbesondere von 15 bis 50 Gew.% und besonders bevorzugt von 24 bis 36 Gew.%, zugesetzt werden.
- 25 In einem derartigen, bevorzugten Extrakt kann der Anteil der Aminosäuren aus der Gruppe (I) durch Zugabe von 1,5 bis 4,5 Gew.%, vorzugsweise 2,4 bis 3,6 Gew.% Glycin und der Anteil der Komponente (d) (Zuckeralkohol) beispielsweise durch Zugabe von 3,0 bis 7,0, vorzugsweise 4 bis 6 Gew.% D-Mannit erhöht werden.
- 30 Dem Extrakt wird vorzugsweise ferner D-Lactose-Monohydrat als Stabilisator für D-Panthenol in einem Anteil von 0,8 bis 1,2 Gew.% zugesetzt.
- 35 Die Erhöhung des Anteils an Glycin auf 1,5 bis 4,5 Gew.%, vorzugsweise 2,4 bis 3,6 Gew.%, hat sich zur Verbesserung der Epi-

- thelisierung der Haut bzw. der Förderung der Wundheilung besonders bewährt. Durch den erhöhten Anteil an D-Mannit lassen sich die Eigenschaften der synthetisch wäßrigen Organextrakte weiter verbessern, und es hat sich erwiesen, daß die erfindungsgemäß
- 5 definierte Wirkstoff-Kombination in den oben angegebenen Mengenverhältnissen in Verbindung mit den übrigen Komponenten die Wirksamkeit und das Wirkungsspektrum der synthetischen Organextrakte in hohem Maße positiv beeinflusst.
- 10 Die getrennte oder kombinierte Verwendung von D-Panthenol, Glycin und D-Mannit, vorzugsweise mit den oben genannten Anteilen, führt zu wäßrigen synthetischen Organextrakten, die in ihrer biologischen Funktion und Wirksamkeit verbesserte Eigenschaften aufweisen. Insbesondere zeichnen sich die synthetischen Organ-
- 15 extrakte durch eine Erhöhung der Zellproliferation und eine positive Beeinflussung des Keratinisierungsprozesses aus. Eine noch weiter beschleunigte Wundheilung, verbunden mit einer Förderung der Granulation sowie eine Stimulierung der Epithelisierung sind neben einer Verbesserung des Feuchthaltevermögens der
- 20 Haut (Moisturising effect), einer Normalisierung des Fettgehaltes sowie einer besseren Schutzwirkung vor Radikalen, besonders in hydrophilen inter- und intrazellulären Bereichen, als besondere Vorteile der erfindungsgemäßen synthetischen wäßrigen Organextrakte zu beobachten. Die Formulierungen führen zur Durch-
- 25 blutungsförderung und zur allgemeinen Linderung von Hautreizungen. Es kommt somit nicht nur zur Verminderung des Erythems und zur Verbesserung der Hautregeneration nach Sonnenbrand, sondern es wird eine noch weitere, allgemeine Verbesserung des Hautzustandes, wie zum Beispiel Hautglättung und Geschmeidigkeit der
- 30 Haut, erreicht.

- Bei Verwendung von D-Panthenol, das Vorstufe der im Haar vorkommenden D-Pantothenensäure ist, eignen sich die wäßrigen synthetischen Organextrakte außerdem vorteilhaft für den Einsatz in der
- 35 Haarkosmetik. Die Kombination der in den erfindungsgemäßen Organextrakten enthaltenen Inhaltsstoffe sorgt bei gleichzeitiger

Anwesenheit von Panthenol für die Ausbildung einer Schutzschicht, die das Haar in äußerst vorteilhafter Weise vor dem Austrocknen schützt.

- 5 Die erfindungsgemäßen Organextrakte sind im wesentlichen proteinfrei, und vorzugsweise wird gänzlich auf Proteine verzichtet.

- 10 Der Trockenstoffgehalt der synthetischen Organextraktlösung kann, abhängig vom Verwendungszweck, 0,2 bis 60 Gew.% betragen. Der Trockenstoffgehalt des oben erläuterten, besonders bevorzugten Extraktes kann 30 bis 50 Gew.% betragen.

- 15 Die erfindungsgemäßen synthetischen wäßrigen Organextrakte können als Ersatz oder als Ergänzung für Placenta-, Thymus-, Blut-, Milz-, Leber-, Kollagen-, Bindegewebs-, Amnionflüssigkeits-, Quallen-, Rogen- und Euterextrakte bzw. für deren Kombinationen verwendet werden.

- 20 Sie sind besonders zur Herstellung von kosmetischen Formulierungen geeignet, wobei zwei oder mehrere Typen miteinander vereinigt werden können, um spezielle Effekte zu erzielen.

- 25 Die erfindungsgemäßen synthetischen wäßrigen Organextraktes sind ferner zur Herstellung medizinischer Präparate zur topischen, subkutanen oder intramuskulären Applikation für die Zwecke der äußeren und inneren Wundheilung geeignet sowie zur Herstellung medizinischer Präparate zur Stärkung des Immunsystems.

- 30 Schließlich stellen sie wertvolle Mittel zur Herstellung medizinischer Präparate zur Aktivierung des Zellstoffwechsels und zur Behandlung gastroenterologischer Erkrankungen, insbesondere von Ulcera dar.

- 35 Für die Herstellung der hier beschriebenen synthetischen Organextraktpräparate hat sich ein Verfahren besonders bewährt, bei

dem man zunächst ein Gemisch aus zwei Teillösungen herstellt, wobei die Teillösung I eine wäßrige, entionisierte Lösung ist, welche die Hexite, Kohlenhydrate, leicht wasserlöslichen Aminosäuren bzw. deren Salze und gegebenenfalls Harnstoff und Konservierungsstoffe enthält, und die Teillösung II eine alkalisch-wäßrige Lösung der in Alkali leicht löslichen Aminosäuren ist. Das alkalisch reagierende Gemisch wird dann mit den Carbonsäuren und Alkoholen versetzt, bevor die Mineralsalze, Vitamine und Spurenelemente hinzugegeben werden. Danach erfolgt die Mischung der wasserlöslichen bzw. wasserlöslich gemachten Nucleinsäureverbindungen. Dieser Ansatz wird schließlich mit einem oder mehreren desodorierten Ansätzen von die Peptidkomponente (b) enthaltenden, gegebenenfalls zuvor entsalzten, wäßrigen Lösungen vereinigt und mit Wasser auf das Endvolumen eingestellt. Der pH-Wert der Endlösung wird vorzugsweise auf 4,0 bis 7,0 eingestellt. Abschließend wird die Lösung sterilfiltriert. Als besonders vorteilhaft bei der Herstellung der erfindungsgemäßen Extrakte hat sich die Verwendung von vollständig entsalztem bzw. bidestilliertem Wasser erwiesen.

Es ist zweckmäßig, die Mischungs- und Lösungsschritte unter stetigem Rühren und unter Stickstoff-Schutzatmosphäre durchzuführen. Die Peptidlösungen werden vorzugsweise mit Aktivkohle desodoriert. Das Arbeiten unter pyrogenfreien Bedingungen schafft die besten Voraussetzungen für den Erhalt von stabilen synthetischen Organextraktlösungen und ist deshalb besonders bevorzugt.

Zur Herstellung eines erfindungsgemäß bevorzugten Extraktes kommen Komponenten aus den Gruppen (a) - (k) in den nachfolgend angegebenen Zusammensetzungen und Mengenanteilen in Betracht.

(a) Aminosäuren und Derivate

L-Glutaminsäure

0,1 - 2,5 g/l

- L-Histidin, L-Ornithin.HCl, L-Asparagin,
L-Asparaginsäure, L-Valin, L-Tyrosin,
L-Phenylalanin, Kreatinin je 0,01 - 0,5 g/l
- 5 Hydroxyprolin 0,3 - 1,2 g/l
- DL-Threonin 0,03 - 0,5 g/l
- L-Methionin, L-Isoleucin, L-Tryptophan,
10 L-Leucin, β -Alanin, Cystein je 0,01 - 0,07 g/l
- L-Alanin, Glycin, L-Prolin, L-Serin,
L-Arginin.HCl, L-Lysin.HCl je 0,15 - 40,0 g/l
- 15 Hippursäure 0,0005 - 0,8 g/l
- Harnstoff 0,15 - 10,0 g/l
- 20 (b) Peptide und Derivate
- Oligopeptide mit 3 bis 6 Aminosäuren,
ggfs. als Metallkomplexe stabilisiert 0,01 - 5,0 mg/l
- 25 Weitere Elemente der Komponentengruppen (a) und (b) können durch
Peptonzusätze bzw. durch nachfolgend näher erläuterte Zusätze in
die Endlösung gelangen.
- (c) Nucleinsäure-Komponenten und Derivate
- 30 Adenin, Adenosin, Cytidin, Cytosin, Guanin,
Guanosin, Hypoxanthin, Inosin, Thymin,
Uracil, Uridin, Xanthin, Harnsäure, Orot-
säure, cycl. AMP, und/ oder Adenosinmono-
35 phosphat je 0,0005 - 0,2 g/l

(d) Kohlenhydrate und Derivate

	Glucose	0,01 - 1,0 g/l
5	Sorbit, Mannit, Inosit und/oder Dulcitol	je 0,2 - 60,0 g/l

(e) Aliphatische Carbonsäuren

10	Bernsteinsäure, Äpfelsäure und/oder Citronensäure	je 0,25 - 10,0 g/l
----	---	--------------------

(f) Alkohole mit 2 bis 7 Kohlenstoffatomen

15	Ethanol (96%-ig, medizinisch rein)	1,0 - 25,0 g/l
	Glycerin	0,25 - 5,0 g/l
	Benzylalkohol	0,05 - 3,0 g/l

(g) Vitamine

25	Thiamindichlorid, Nicotinsäureamid, Nicotinsäure, p-Aminobenzoessäure, Calciumpanthotenat, myo-Inosit, Pyridoxol·HCl, Biotin und/oder Tocopherolsuccinat	je 0,1 - 50 mg/l
	und/oder	
30	D-Panthenol	200 - 400 g/l

(h) Mineralsalze und Spurenelemente

35	gegebenenfalls	
	Magnesiumsulfat, Magnesiumacetat, Magnesiumaspartat	je 0,002 - 0,1g/l
40	Zinkacetat, Kobaltgluconat, Mangangluconat, Zinkchlorid, Kupferacetat	je 0,001 - 0,1mg/l

(i) Sonstige Bestandteile

45	N-Methylglucamin	0,1 - 3,0 g/l
	Natriumlactat	0,1 - 5,0 g/l
	und gegebenenfalls	
50	Lactose-Monohydrat	5,0 - 15,0 g/l

(k) Konservierungsstoffe

p-Hydroxybenzoesäuremethylester-Natriumsalz 1,0 - 2,5 g/l

5 und/oder

Kaliumsorbat 0,1 - 5,0 g/l

10 Die Komponente (k) umfaßt erfindungsgemäß sämtliche der in Anlage 6 der Kosmetik-Verordnung vom 19. Juni 1985 (BGBl. I S. 1082), zuletzt geändert am 21.3.1990 (BGBl. I S. 589), angegebenen Konservierungsstoffe.

15 Die Teillösung I kann hergestellt werden, indem die folgenden Bestandteile unter sterilen Bedingungen und unter Rühren in bidestilliertem Wasser entsprechend 3/10 bis 4/10 des Endvolumens bei einem pH-Wert zwischen 6,0 und 7,0 gelöst werden. Hierzu werden zunächst die Aminosäuren L-Glutaminsäure, L-Asparaginsäure, L-Valin, L-Tyrosin, L-Phenylalanin, L-Isoleucin und
20 L-Leucin in 2 N NaOH vorgelöst. Anschließend erfolgt die Zugabe der Carbonsäuren Citronensäure, Bernsteinsäure und Äpfelsäure, wobei der pH-Wert gegebenenfalls nachreguliert werden muß. Zu diesem Ansatz werden dann die weiteren Aminosäuren bzw. deren
25 Derivate, nämlich L-Alanin, L-Histidin, Glycin, L-Ornithin, L-Asparagin, L-Threonin, L-Hydroxyprolin, Kreatinin, L-Methionin, L-Tryptophan, L-Prolin, L-Serin, L-Arginin·HCl, L-Lysin·HCl sowie Hippursäure und Harnstoff gegeben. Die Nucleinsäurekomponenten werden teilweise vorgelöst, so z.B. Xanthin in 3N NaOH
30 und Guanin in 3N HCl, und dann vor deren Zugabe weitgehend neutralisiert. Die jeweiligen Mengen der für eine gewünschte Teillösung I benötigten Komponenten variieren in Abhängigkeit mit der angestrebten Zusammensetzung des gewünschten synthetischen Organextraktes und beziehen sich jeweils auf 1 Liter Endvolumen.
35 Die Angaben beziehen sich demzufolge auf die jeweiligen Endkonzentrationen.

Die für die Herstellung des gewünschten synthetischen Organextrakts erforderliche Teillösung II kann beispielsweise wie folgt

zubereitet werden: Ein oder mehrere Peptone, die aus Casein, Soja, Gelatine, Hefe, partiell dehydratisierter Hefe, Lactalbumin oder ähnlichen tierischen bzw. pflanzlichen Ausgangsstoffen gewonnen worden sind, werden zur Desodorierung und Entfärbung in
5 der 10- bis 40-fachen Menge wie destilliertem Wasser unter starkem Rühren gelöst bzw. suspendiert und über Nacht unter Rühren mit Aktivkohle behandelt, und zwar mit einer Menge, die 5 bis 15 Gew.%, bezogen auf die Gesamtmenge der eingesetzten Peptone, entspricht. Nach Abnutschen und Sterilfiltration des Ansatzes
10 durch ein 0,2 µm Filter (Millipore®) wird die Peptonlösung zu der Teillösung I gegeben. Dabei wird die Menge so bemessen, daß die Endlösung 2,0 bis 12,0 g/l Pepton enthält.

Alternativ kann die Teillösung II hergestellt werden, indem man
15 ein oder mehrere tierische Peptone mit der 9- bis 12-fachen Menge 0,5 bis 1,2 N HCl im Rührautoklaven 1 bis 4 Stunden lang auf 100°C erhitzt, anschließend auf 15°C abkühlt und mit einer solchen Menge NaOH versetzt, daß das erhaltene Partialhydrolysat 1 N an NaOH ist. Nach einer Zeitdauer von 90 Minuten wird der
20 pH-Wert der Lösung mit HCl auf 6,8 eingestellt und der Ansatz entsalzt. Anschließend kann die erhaltene Lösung wie oben mit Aktivkohle behandelt und gegebenenfalls nach Sterilfiltration der Teillösung I hinzugefügt werden.

25 Alternativ können auch geeignete Peptone tierischen Ursprungs, wie insbesondere Kollagenpepton des Typs I mit bakterieller Kollagenase in Tris-HCl-Puffer bei einer Temperatur von 36,8 °C und einem pH-Wert von 7,4 in Gegenwart von Ca^{++} -Ionen behandelt werden. Nach einer Inkubationszeit von 5 Stunden wird der Ansatz
30 dialysiert und nach Einstellen des pH-Wertes auf 6,8 und Sterilfiltration der Teillösung I hinzugegeben.

Die Erfindung wird nachfolgend anhand von Beispielen näher erläutert.

Beispiel 1

Herstellung eines synthetischen Placentaextraktes

5 Die nachfolgend aufgeführten Bestandteile wurden unter sterilen Bedingungen und unter Rühren in einem Volumen bidestillierten Wassers gelöst, welches 3/10 bis 4/10 des einzustellenden Endvolumens entspricht. Dabei wurde der pH-Wert der Lösung zwischen 6,0 und 7,5 gehalten.

10

Die nachfolgend aufgeführten Mengen der dem Ansatz zugegebenen Komponenten beziehen sich jeweils auf 1 l Endvolumen.

(a) <u>Aminosäuren und Derivate</u>			
15	L-Glutaminsäure	0,3	g
	L-Histidin	0,06	g
	L-Ornithin	0,08	g
	L-Asparagin	0,05	g
	L-Asparaginsäure	0,15	g
20	L-Valin	0,05	g
	L-Tyrosin	0,03	g
	DL-Threonin	0,04	g
	L-Hydroxyprolin	0,2	g
	L-Phenylalanin	0,04	g
25	Kreatinin	0,01	g
	L-Methionin	0,02	g
	L-Isoleucin	0,001	g
	L-Tryptophan	0,02	g
	L-Leucin	0,05	g
30	B-Alanin	0,035	g
	Cystein	0,002	g
	L-Alanin	0,24	g
	Glycin	0,4	g
	L-Prolin	0,24	g
35	L-Serin	0,26	g
	L-Arginin	0,3	g
	L-Lysin	0,3	g
	Hippursäure	0,001	g
	Harnstoff	0,8	g

(b) Peptide und Derivate

5	Oligopeptide mit 3 bis 10 Aminosäuren u. pflanzl. Peptone bzw. Peptonhydrolysate	4,0 g
---	---	-------

(c) Nucleinsäurekomponenten und Derivate

	Adenin	0,02 g
10	Adenosin	0,02 g
	Cytidin	0,04 g
	Guanin	0,01 g
	Cytosin	0,03 g
	Guanosin	0,02 g
15	Hypoxanthin	0,02 g
	Inosin	0,1 g
	Thymin	0,04 g
	Uracil	0,02 g
	Uridin	0,03 g
20	Xanthin	0,01 g
	Harnsäure	0,001 g
	Orotsäure	0,001 g
	cyclisches AMP	0,04 g
	Adenosinmonophosphat	0,01 g

(d) Kohlenhydrate und Derivate

	Glucose	0,15 g
	Sorbit	2,0 g
30	Mannit	0,1 g

(e) Aliphatische Carbonsäuren

	Bernsteinsäure	1,5 g
35	Äpfelsäure	0,01 g
	Citronensäure	0,1 g

(f) Alkohole

40	Ethanol	2,0 ml
	Glycerin	0,4 ml
	Benzylalkohol	0,4 ml

(g) Vitamine

45	Thiamindichlorid	0,002 g
	Nikotinsäureamid	0,01 g
	Calciumpantothenat	0,002 g
	myo-Inosit	0,05 g
50	Pyridoxol-HCl	0,6 mg
	Biotin	0,1 mg
	Tocopherolsuccinat	0,002 g

(h) Mineralsalze und Spurenelemente

	Magnesiumsulfat	0,05	g
	Magnesiumaspartat	0,05	g
5	Zinkacetat	0,1	mg
	Kobaltgluconat	0,005	mg
	Mangangluconat	0,01	mg
	NaH ₂ PO ₄ -H ₂ O	0,05	g

10 (i) Sonstige Zusätze

	N-Methylglucamin	0,4	g
	Natriumlactat	1,0	g

15 (k) Konservierungsstoffe

p-Hydroxybenzoesäuremethylester-Natriumsalz 0,7 g

Zunächst wurden die Aminosäuren L-Glutaminsäure, L-Asparaginsäure, L-Valin, L-Tyrosin, L-Phenylalanin, L-Isoleucin und L-Leucin in 2 N NaOH vorgelöst. Anschließend erfolgte die Zugabe der Carbonsäuren, Zitronensäure, Bernsteinsäure und Äpfelsäure. Nachdem der pH-Wert der Lösung auf 6,4 eingestellt worden war, wurden dem Ansatz die folgenden Aminosäurekomponenten L-Alanin, L-Histidin, Glycin, L-Ornithin, L-Asparagin, DL-Threonin, L-Hydroxyprolin, Kreatinin, L-Methionin, L-Tryptophan, L-Prolin, L-Serin, L-Arginin·HCl, L-Lysin·HCl, Hippursäure und Harnstoff zugegeben. Die Nucleinsäurekomponenten Xanthin und Guanin wurden in 3 N NaOH bzw. 3 N HCl vorgelöst und dann weitgehend neutralisiert.

Der pH-Wert der nach Zugabe der aufgeführten Komponenten erhaltenen Teillösung I wurde auf 6,4 eingestellt. Anschließend erfolgte unter Rühren die Zugabe der Teillösung II, welche wie nachfolgend angegeben hergestellt wurde. Eine aus Soja, Mais und partiell dehydratisierter Hefe im Gewichtsverhältnis von 1:1:10 gewonnene Peptonmenge von insgesamt 4,0 g wurde zur Desodorierung und Entfärbung in einer 40-fachen Menge bidestillierten Wassers unter starken Rühren gelöst und über Nacht unter weiterem Rühren mit 0,6 g frischer Aktivkohle behandelt. Die so erhaltene Peptonlösung wurde nach Abnutschen und Sterilfiltration

durch ein 0,2 µm-Filter (Millipore) der oben angegebenen Teillösung I zugegeben.

Anschließend wurden dem Ansatz die synthetischen Peptidfragmente
5 Gly-His-Lys, Gly-His-Pro und Glutathion in einer Gesamtkonzentration von 0,1 mg/l zugegeben.

Abschließend wurde das Endvolumen mit bidestilliertem Wasser auf
1 l gebracht und der pH-Wert auf 6,4 eingestellt. Die Abfüllung
10 des erhaltenen synthetischen Placentaextraktes erfolgte durch ein 0,2 µm Millipore-Filter.

Die Analysendaten des erhaltenen synthetischen Placentaextraktes waren wie folgt:

15	pH-Wert:	6,4
	Trockenstoffgehalt:	1,4 Gew. %
	N-Gehalt nach Kjeldahl:	0,1 %
	Aminosäuren:	positiv (Ninhydrin)
20	Stoffwechselaktivität:	
	- Atmungssteigerung von Leberhomogenat	>1,8
	- Gärungssteigerung von Hefe	1,8
	Chloridgehalt:	<0,2 %
	Sulfat:	0,05 %
25	Hormone:	negativ
	Schwermetalle:	<20 ppm
	Sterilität:	absolut keimfrei
	Toxikologie DL ₅₀ Maus:	>25 g/kg
	Dermatologische Prüfung:	ohne Reizwirkung
30	Haltbarkeit:	>3 Jahre.

Die kosmetische Wirksamkeit des hergestellten synthetischen Placentaextraktes wurde mit Hilfe des Padberg-Testes geprüft. Dabei wurde eine W/O-Creme mit 1 % synthetischem Extrakt hergestellt und diese mit einer Creme verglichen, die 1 % natürlichen
35

Placentaextrakt enthielt. Beide Cremes wurden mit einer Placebo-Creme ohne jeglichen Zusatz verglichen.

Der Padberg-Test wurde wie folgt durchgeführt:

- 5
 - Markieren der Teststelle auf der Haut
 - Vorbehandlung der Hautstelle mit einer 1%-igen Lösung eines nichtionischen Tensids zur Beeinträchtigung der Haut ("subjektiv raue Haut")
- 10
 - Waschen der Teststelle mit 37°C warmem Wasser
 - Abwischen der Teststelle
 - Akklimatisieren des Subjektes bei 20°C und einer relativen Feuchte von 60% für eine Zeitdauer von 45 Minuten
 - Auftragen von 20 ml einer Flecklösung, die 20% 0,5%-iges
- 15
 - Methylenblau und 80% eines 1%-igen nichtionischen Tensids enthält
 - 30 Sekunden langes Einwirken der Flecklösung auf die Teststelle
 - Trocknen des Farbstoffs, 1 Minute lang
- 20
 - Entfernen von überschüssigem Farbstoff mit einer 0,2%-igen Lösung des verwendeten nichtionischen Tensids
 - 2-maliges, jeweils 60 Sekunden langes Eluieren mit 2 ml-Portionen einer Natriumlauratlösung (2,3% Natriumlaurat, 48,7% reines Wasser, 49% Isopropylalkohol)
- 25
 - Bestimmung der Absorption des Eluats bei 660 nm mit einem Spektrometer

Die Testbehandlung wurde durchgeführt, indem über einen Zeitraum von 20 Tagen zweimal täglich eine Probe aufgetragen wurde. Dabei

30 wurde sichergestellt, daß die Testpersonen sowohl 3 Tage vor dem Test als auch während der Testperiode kein anderes Kosmetikum verwendet hatten. Am 21. Tag nach Beginn der Behandlung wurden die oben aufgeführten Verfahrensstufen einschließlich der Elution 4 Stunden vor der abschließenden Bewertung durchgeführt.

- In der folgenden Tabelle I ist das jeweilige Verhältnis der Absorption von Methylenblau vor und nach dem Auftragen bei jeder Person für die W/O-Cremes in % aufgeführt, wobei die erfindungsgemäß hergestellte W/O-Creme mit 1% synthetischem Placentaextrakt mit einer W/O-Creme mit 1% natürlichem Placentaextrakt und mit einer W/O-Creme als Placebo verglichen wurde. Die absorbierte Menge an Methylenblau verläuft proportional zur Rauigkeit der Haut und die in der Tabelle aufgeführten Prozentgehalte wurden gemäß der folgenden Gleichung ermittelt:
- $$\text{Hautrauigkeit (\%)} = \frac{\text{Absorption nach Auftragung}}{\text{Absorption von unbehandelter Haut}} \times 100 ,$$
- wobei davon ausgegangen wird, daß eine mit einer Creme behandelte Haut nur eine kleine Menge Methylenblau absorbiert. Der Mittelwert für 12 Versuchspersonen lag für den natürlichen Placentaextrakt etwas höher als für die erfindungsgemäße Formulierung eines synthetischen Placentaextraktes. Der Placebowert war dementsprechend wesentlich höher.

Tabelle I

Alter der Versuchsperson	W/O-Creme mit 1% Zusatz des synthetischen Placentaextrakt	W/O-Creme mit 1% Zusatz von natürlichem Placentaextrakt	Placebo
25			
45	53,0	60,0	95,0
52	59,6	68,1	92,4
30			
48	60,0	50,2	96,0
59	55,8	60,0	90,4
46	58,7	52,3	95,0
41	64,0	71,5	76,7
50	62,0	63,9	90,7
35			
55	70,4	65,5	79,9
62	40,7	58,0	76,6
48	48,0	55,0	80,7
55	60,0	58,0	89,7
59	<u>44,0</u>	<u>65,0</u>	<u>78,9</u>
40	56,4	60,6	86,6

Beispiel 2.

Zur Herstellung erfindungsgemäßer synthetischer wäßriger Organ-
extrakte wurden die in Tabelle II aufgeführten Substanzen ver-
wendet. Die Herstellung erfolgte unter sterilen Bedingungen ohne
5 Verwendung organischer Extraktionsmittel sowie unter Vermeidung
thermischer Belastung der wäßrigen Mischung.

Die Einzelsubstanzen wurden gemäß Beispiel 1 in Form von Teillö-
10 sungen jeweils zu synthetischen Organextrakten verarbeitet.

Tabelle II:

Nr.	% w/w	Substanzbezeichnung
1	24 - 36	Panthenol-D
2	0,8 - 1,2	Lactose-Monohydrat
3	0,16 - 0,24	4-Hydroxybenzoesäuremethylester Na-Salz
4	0,03 - 0,05	Kaliumsorbitat
5	0,1 - 0,15	Benzylalkohol
6	0,008 - 0,012	L-Asparagin-H ₂ O
7	0,0016 - 0,0024	L-Methionin
8	2,4 - 3,6	Glycin
9	0,03 - 0,04	L-Serin
10	0,04 - 0,06	L-Alanin
11	0,002 - 0,003	β -Alanin
12	0,056 - 0,084	L-Prolin
13	0,004 - 0,006	DL-Threonin
14	0,03 - 0,05	L-Arginin-HCl
15	0,06 - 0,08	Hydroxyprolin
16	0,03 - 0,05	L-Lysin-HCl
17	0,008 - 0,012	L-Ornithin-HCl
18	0,009 - 0,013	Inosin
19	0,0016 - 0,0024	Adenin
20	0,0016 - 0,0024	Adenosin-Monohydrat
21	0,0032 - 0,0048	Cytidin
22	0,0024 - 0,0036	Cytosin
23	0,0027 - 0,0041	Uridin
24	0,0013 - 0,0019	Guanosin
25	0,0018 - 0,0026	Hypoxanthin
26	0,0014 - 0,0022	Uracil
27	0,004 - 0,006	Thymin
28	0,00064 - 0,00096	Guanin gelöst in 3 ml 20 %-iger HCl
29	0,0014 - 0,0022	Xanthin gelöst in 2 ml 10 %-iger NaOH
30	0,00032 - 0,00048	Harnsäure gelöst in 10 %-iger NaOH
31	0,12 - 0,18	D(-)-N-Methylglukamin
32	0,16 - 0,24	Sorbit

33	4,0 - 6,0	D-Mannit
34	0,08 - 0,12	Chondriosomenextrakt P2 (aus Hefe)
35	0,0032 - 0,0048	Natrium-L-t-ascorbat
36	0,075 - 0,11	Natriumlactat 50 %-ig
37	0,28 - 0,42	Ethanol absolut
38	0,008 - 0,012	Natriumchlorid
39	0,00024 - 0,00036	Thiamin* HCl
40	0,004 - 0,006	myo-Inosit
41	0,0012 - 0,0018	Nikotinsäureamid
42	0,0013 - 0,0019	Pyridoxolhydrochlorid
43	0,0024 - 0,0036	Kreatinin
44	0,02 - 0,03	Harnstoff
45	0,032 - 0,048	alpha-D-Glucose
46	0,0032 - 0,0048	NaH ₂ PO ₄ -H ₂ O
47	0,16 - 0,24	Bernsteinsäuredi-Na-Salz-6H ₂ O
48	0,0048 - 0,0072	L-Valin
49	0,0048 - 0,0072	L-Tyrosin
50	0,004 - 0,006	L-Leucin
51	0,0032 - 0,0048	L-Phenylalanin
52	0,021 - 0,031	L-Asparaginsäure
53	0,027 - 0,041	L-Glutaminsäure
54	0,00056 - 0,00084	Hippursäure
55	0,000048 - 0,000072	Aminobenzoesäure
56	0,0027 - 0,0041	L-Tryptophan
57	0,16 - 0,24	Citronensäuremonohydrat
58	0,032 - 0,048	Bernsteinsäure z.A.
59	0,04 - 0,06	Glycerin 87 % reinst DAB
60	0,0000008 - 0,0000012	Zinkchlorid (gelöst in 1 ml VE-Wasser)
61	0,00000016- 0,00000024	Kupferacetat Monohydrat (gelöst in 1 ml H ₂ O)
62	1,9 - 2,9	Peptidlösung (Hefebasis) proteinfrei
63	0,16 - 0,24	Hefeextrakt GfN (über Nacht mit
64	0,016 - 0,024	Aktivkohle gerührt und über ein Sterilfilter abgesaugt)
65	0,00048 - 0,00072	Hyaluronsäure
66	Differenz zu 100 % w/w	VE-Wasser

Für den so hergestellten Extrakt ergeben sich folgende charakteristische Daten:

5	Farbe und Aussehen:	schwach gelblich, klar
	Löslichkeit:	kaltwasserlöslich, mischbar mit Ethanol (80 %-ig) 1:1
10	Geruch:	sehr schwach artspezifisch
	Dichte (20°C):	etwa 1,1 g/cm ³
	pH-Wert:	6,4 bis 6,5
15	Brechungsindex n _D 20:	etwa 1,4
	Trockenrückstand:	31,0 bis 47,5 %
20	Stickstoffgehalt nach Kjeldahl:	4,6 bis 7,0 %
	Aminosäuren (Ninhydrin-Nachweis):	positiv
25	Peptide (Nachweis mit Biuret-Reagenz):	positiv
	mikrobiologische Reinheit:	keimfiltriert

30 Beispiel 3

Herstellung eines synthetischen Serum-/Placentaextraktes

Die Herstellung eines synthetischen kombinierten Serum- und
35 Placentaextraktes erfolgte zunächst bis zur Zugabe der Komponenten (k) gemäß Beispiel 1 mit der Abweichung, daß die jeweiligen Mengen der Aminosäuren Serin, Prolin, Arginin und Lysin sowie die Menge der unter (f) angegebenen Alkohole um 50% erhöht wurden. Nach Zugabe der Komponente (i) wurde der pH-Wert auf 6,8
40 eingestellt. Anschließend wurden dem Ansatz die folgenden Peptidkomponenten hinzugegeben:

- a) Synthetische Peptidfragmente gemäß Beispiel 1
- 45 b) 0,1 mg des Peptidfragments Arg-Gly-Val-Phe-Arg-Arg

- c) Eine aus partiell dehydratisierten Hefen und Soja gewonnene Peptonmischung im Gewichtsverhältnis von 5:1 wurde mit der 10-fachen Menge 1 N HCl 3 Stunden lang auf 100°C im Rühr-autoklaven erhitzt, sodann auf 15°C abgekühlt und mit einer solchen Menge NaOH versetzt, daß das erhaltene Partialhydro-
5 lysat 1 N an NaOH war. Nach 90 Minuten wurde der pH-Wert mit HCl auf 6,8 eingestellt und der Ansatz entsalzt. Die anschließende Behandlung mit Aktivkohle sowie die anschließende Sterilfiltration erfolgte gemäß Beispiel 1. Von der aus
10 dem Partialhydrolysat von Peptonen erhaltenen 5%-igen Peptid-Aminosäure-Lösung wurden 20 g zugegeben.

Das erhaltene Lösungsgemisch wurde auf einen pH-Wert von 6,8 eingestellt und mit bidestilliertem Wasser auf das Endvolumen
15 von 1 l verdünnt und erneut durch ein 0,2 µm Millipore-Filter sterilfiltriert.

Die Eigenschaften des erfindungsgemäß hergestellten synthetischen Extraktes waren wie folgt:

20

Konsistenz:	klare wäßrige Flüssigkeit
Geruch:	angenehm, frei von organischen Lösungsmitteln
Farbe:	schwach gelblich
25 Löslichkeit:	unbegrenzt mit Wasser mischbar, mit Ethanol mischbar im Verhältnis 1 : 1
pH-Wert:	6,8
Trockenstoffgehalt:	2,0 Gew. %
30 N-Gehalt nach Kjeldahl	0,12%
Aminosäuren:	positiv (Ninhydrin)
Peptide:	positiv (Biuret)
Stoffwechselaktivität	
- Atmungssteigerung	
35 von Leberhomogenat	>2,5
- Gärungssteigerung	
von Hefe	>2,0

Schwermetalle:	<10 ppm
Sterilität:	keimfrei
Konservierungsmittel:	4-Hydroxybenzoesäuremethylester
Toxikologie: DL ₅₀ Maus	>25 g/kg
5 Hormone:	negativ

Zur Demonstration der Wirksamkeit des erfindungsgemäß hergestellten kombinierten synthetischen Placenta-/Serumextraktes wurden Wundheilungsversuche gemäß DE-PS 37 11 054 sowie anschließend Hautspannungsmessungen durchgeführt. Zum Vergleich wurde ein Präparat auf der Basis einer Kombination der beiden natürlichen Organextrakte herangezogen. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle II zusammengestellt.

15

Tabelle II

	<u>Zeit nach Setzen der Wunde</u>	<u>Versuchs- gruppe</u>	<u>Kontroll- gruppe</u>	<u>Differenz</u>
20	a) Kombination der natürlichen Extrakte aus Serum und Placenta			
	5 Tage	216 ± 15	104 ± 29	113
	12 Tage	470 ± 26	402 ± 24	68
25	16 Tage	809 ± 49	719 ± 40	90
	21 Tage	1627 ± 56	1412 ± 60	215
	b) Erfindungsgemäßes Präparat nach Beispiel 3			
30	5 Tage	250 ± 17	105 ± 30	145
	12 Tage	530 ± 32	430 ± 22	100
	16 Tage	900 ± 50	740 ± 33	160
	21 Tage	1810 ± 50	1465 ± 55	345

35 Die in der Tabelle aufgeführten Ergebnisse dokumentieren die überlegene Wirksamkeit des erfindungsgemäßen Präparats. Dieses führte zu jeweils höheren Werten der Hautspannung, als sie durch das Kontrollpräparat erhalten werden konnten.

40 Erfindungsgemäß hat sich gezeigt, daß ein synthetischer Organextrakt, der das unter b) genannte Peptidfragment Arg-Gly-Val-Phe-Arg-Arg nicht enthält, ähnliche Eigenschaften und Wirksamkeit wie der in diesem Beispiel beschriebene Extrakt aufweist.

Der oben beschriebene synthetische Serum-/Placentaextrakt mit dem unter b) genannten Peptidfragment ist jedoch wegen seiner überlegenen Wirksamkeit bevorzugt.

5

Beispiel 4

Herstellung eines synthetischen Milzextraktes

10 Jeweils 400 l der in den Beispielen 1 und 3 beschriebenen Teillösungen I bzw. II wurden mit einer Peptidlösung kombiniert, welche 1 g synthetische Peptide enthielt, die in Partialhydrolysaten von Milzproteinen und Milzkollagenen nachgewiesen worden waren. Die kombinierte Lösung wurde anschließend mit bidestil-

15 liertem Wasser auf das Endvolumen von 1000 l gebracht und nach Einstellung des pH-Wertes auf 6,5 durch ein Membranfilter mit einer Maschenweite von 0,2 µm sterilfiltriert. Die Analysedaten sind wie folgt:

20	pH-Wert:	6,5
	Trockenstoffgehalt:	2,5 Gew. %
	Atmungssteigerungsfaktor:	>2,5
	(Warburg)	
	Sterilität:	keimfrei
25	Toxikologie DL ₅₀ Maus:	>25 g/kg
	Proteine:	negativ

Die hohe Stoffwechselaktivität der hergestellten synthetischen Extraktlösung konnte am Proliferationsverhalten von Zellkulturen

30 nachgewiesen werden. Dabei wurden sowohl die Vermehrung als auch die Subkultivierung von Fibroblasten in offenen und geschlossenen Kulturgefäßen unter dem Einfluß der gemäß Beispiel 4 hergestellten Lösung beobachtet.

35 Zur Durchführung des Versuches wurden unter sterilen Bedingungen aus 9 bis 16 Tage lang bebrüteten Hühreembryos Bindegewebe und Knochengewebe sowie Epithelien explantiert und mit der Plasma-

Extrakt-Gel-Methode nach Carrel bei einem pH-Wert von 7,2 und einer Temperatur von 37°C im Brutschrank kultiviert. Es wurde die Plasma-Clot-Technik mit Hühnerplasma, Hühner-Embryonalextrakt und Hühnerserum angewendet. Die Testlösungen wurden mit
5 Ringer-Lactatlösung verdünnt. Jeweils 0,02 ml der jeweiligen Konzentrationsstufen wurden dem Kulturmedium zugegeben.

In den folgenden Versuchsreihen wurden Kontrollproben ohne Präparatzusatz zum Vergleich herangezogen.

10

- 1) 1 ml der gemäß Beispiel 4 hergestellten Lösung wurde mit 100 ml Ringer-Lactatlösung verdünnt und es wurden jeder Kultur 0,02 ml zugesetzt. Nach einem Zeitraum von 4 Tagen ergaben sich folgende Reaktionen:

15

(a) Haut: sehr starke, stimulierte Zellproliferation, bedeutend stärker als bei den Kontrollen.

20

(b) Herzmuskel: sehr gute, stimulierte Zellproliferation, stärker als bei den Kontrollen.

25

- 2) Bei einer weiteren Verdünnung (1 ml Originallösung/300 ml Ringer-Lactatlösung) zeigten die Explantate des 12 Tage alten Hühnerembryos nach 4 Tagen folgende Resultate:

(a) Haut: sehr gute Proliferation, schwach bei den Kontrollen.

30

(b) Koronargefäße: sehr starke, stimulierte Fibroblasten-Proliferation, bedeutend stärker als bei den Kontrollen.

35

(c) Herzmuskel: sehr feinfädige, strukturierte Fibroblasten-Proliferation, Kontrolle schlechter.

(d) Leber: gute Zellproliferation.

(e) Os frontale: sehr starke Osteoblasten-Proliferation.

5 (f) Magen: gute Epithel-Proliferation bei starker Lyse (vgl. Fig. 2).

Beispiel 5

10

Herstellung eines synthetischen Thymusextraktes (100 l-Ansatz)

200 g p-Hydroxybenzolsäuremethylester in 0,7 l Ethanol (94%-ig) und 0,1 l Benzylalkohol wurden mit bidestilliertem Wasser auf
15 20 l verdünnt. Hierzu wurden die folgenden Fraktionen in der angegebenen Reihenfolge unter leichtem Rühren zugegeben. Die angegebenen Mengen beziehen sich jeweils auf 1 l der späteren Gesamtlösung.

20	1) Glycin	0,8 g
	L-Alanin, L-Serin, L-Lysin·HCl, L-Prolin, L-Arginin·HCl	je 2,0 g
25	D,L-Threonin, L-Histidin, L-Asparagin	je 0,2 g
	L-Methionin	0,02 g
30	Harnstoff	2 g
	Sorbit	50 g
35	2) L-Asparaginsäure, L-Leucin, L-Tyrosin, L-Phenylalanin, L-Lysin (vorgelöst in 2 N NaOH)	je 0,1 g
	L-Glutaminsäure, L-Valin	je 0,6 g
40	3) Citronensäure	2 g
	Äpfelsäure	0,1 g
45	Bernsteinsäure	2,5 g

4)	n-Methylglucamin	1 g
	Einstellen des pH-Wertes auf 6,8	
5	5) Natriumdihydrogenphosphat	0,2 g
	Natriumlactatlösung (50%-ig)	5 g
10	Glycerin	2 g
15	6) Desodorierte Pepton-Lösung, hergestellt aus 1000 g Pepton, welches in Wasser gelöst, mit 700 g Aktivkohle versetzt, 24 Stunden gerührt und filtriert worden war. Insgesamt:	25 l
20	7) Glucose	0,4 g
	8) Inosin	0,3 g
25	9) Adenin, Adenosin, Guanosin, Thymin, Cytidin, Cytosin, Uridin, Uracil, cycl. AMP, cycl. GMP, ADP, Thiamin-dichlorid	je 0,01 g
30	10) Zinkacetat, Magnesiumacetat, Kobaltgluconat, Mangangluconat	je 0,003 mg
	11) Chondriosomenextrakt (aus Hefe)	2 ml

35 Zu dieser Grundlösung, die ein Volumen von etwa 45 l aufwies,
wurden die folgenden Peptidlösungen hinzugegeben:

- Oligopeptidlösung, enthaltend 0,05 Gew.% der Tri- und Hexa-peptide
Gly-Pro-His, Gly-His-Lys, Gly-His-His-Gly-His-Lys
- 40 - Thymusfaktor-Fragmente 0,1 mg
Ala-Lys-Ser-Glu-Gly-Gly-Ser-Asn,
Gly-Gly-Glu-Arg-Lys-Asp-Val-Tyr-Val-Glu-Leu-Tyr-Leu,
Gly-Gly-Glu-Arg-Lys-Asp-Val-Tyr-Val-Glu-Leu-Tyr-Leu-Val-Tyr-
45 Leu,
Gly-Gly-Glu-Arg-Lys-Asp-Val-Tyr-Val-Glu-Leu

Anschließend wurde der pH-Wert der erhaltenen Lösung auf 6,8 eingestellt und der Ansatz mit bidestilliertem Wasser auf das Endvolumen von 100 l aufgefüllt. Danach wurde der pH-Wert der Lösung erneut auf pH 6,8 eingestellt und der Ansatz durch ein
5 0,2 µm Millipore-Filter sterilfiltriert.

Der so erhaltene synthetische Thymusextrakt wies die folgenden Eigenschaften auf:

10	Aussehen:	klare Lösung
	Farbe:	farblos bis schwach gelb
	Geruch:	desodoriert
	pH-Wert:	6,8
	Trockenfeststoffgehalt	5,3 Gew. %
15	Stickstoffgehalt:	0,7 %
	Aminosäuren:	positiv
	Peptide:	positiv
	Stoffwechselaktivität	
	- Atmungssteigerungsfaktor:	>2,5
20	Schwermetalle:	<10 ppm
	Sterilität:	keimfrei
	Haltbarkeit:	>3 Jahre

Die toxikologischen und pharmakologischen Daten waren wie folgt:

- 25 - Akute Toxizität an Mäusen (80 Tiere)
DL₅₀ i.v. >25 ml/kg
i.p. >50 ml/kg
p.o. >25 g/kg
- 30 - Akute Toxizität an Ratten (80 Tiere)
DL₅₀ i.v. >10 ml/kg
i.p. >20 ml/kg
- Studie der chronischen Toxizität an Albinoratten (40 Tiere)
35 keine Toxizität

- Toxizität bei Hunden (12 Beagle-Hunde, 26 Wochen alt)
keine Toxizität
 - Untersuchungen der Reproduktion, Fertilität und Teratogenität
5 bei Ratten (80 Tiere)
keine Beeinträchtigung
 - Toxizitätsstudien, peri- und postnatal an Ratten (30 Tiere,
21 Tage Schwangerschaft, Alter der Tiere ca. 100 Tage)
10 keine negativen Befunde
 - Untersuchungen teratogener Wirkungen bei Kaninchen (20 Tiere,
Körpergewicht Ca. 2,4 kg)
keine negativen Befunde
15
- Erfindungsgemäß hat sich gezeigt, daß ein in seinen Eigenschaften und seiner Wirkung ähnlicher Thymusextrakt hergestellt werden kann, wenn man anstelle der Tri- und Hexapeptide enthaltenen Oligopeptidlösung nur die genannten Tripeptide, vorzugsweise
20 Gly-His-Lys, verwendet. Auch die alleinige Verwendung des Thymusfaktor-Fragments Ala-Lys-Ser-Glu-Gly-Gly-Ser-Asn anstelle der oben genannten Mischung von Oligopeptiden führt zu akzeptablen Eigenschaften des synthetischen Thymusextraktes. Die vorstehend erläuterten Modifikationen hinsichtlich der Zusammensetzung der
25 eingesetzten Oligopeptidlösung und der verwendeten Thymusfaktor-Fragmente können entweder getrennt oder zusammen vorgenommen werden; sie liefern einen synthetischen Organextrakt, der ähnlich vorteilhafte Eigenschaften aufweist wie der erfindungsgemäß bevorzugte Thymusextrakt, welcher alle der in diesem Beispiel
30 genannten Einzelbestandteile enthält.

Beispiel 6

Herstellung eines synthetischen Serumextraktes (50 l-Ansatz)

- 5 15 g p-Hydroxybenzoesäurealkylester (Natriumsalz) wurden in 20 l bidestillierten Wassers gelöst und es wurden anschließend die folgenden Fraktionen unter Rühren und Stickstoffbegasung hinzugegeben. Die angegebenen Mengen beziehen sich jeweils auf 1 l der späteren Gesamtlösung.
- 10
- | | | | |
|----|--|----|---------|
| 15 | 1) Adenin, Adenosin, Uracil, Uridin, cycl. AMP, cycl. GMP, cycl. TMP, ADP, GDP, Cytosin, Uridin, Cytidin, Thymin, Guanin, Guanosin, ATP-Mg und Hypoxanthin | je | 0,001 g |
| | Inosin | | 0,3 g/l |
| 20 | 2) Glycin | | 1 g |
| | L-Alanin | | 0,2 g |
| | β-Alanin | | 0,1 g |
| | L-Lysin, L-Arginin, L-Prolin, L-Serin | je | 0,3 g |
| | D,L-Threonin | | 0,01 g |
| | L-Leucin, L-Methionin | je | 0,04 g |
| 25 | 3) Glucose | | 0,3 g |
| | Fructose | | 0,02 g |
| | 4) Sorbit | | 9,0 g |
| | Mannit | | 0,5 g |
| 30 | Harnstoff | | 1,5 g |
| | 5) Harnsäure, vorgelöst in heißer 2 N NaOH | | 0,08 g |
| 35 | 6) L-Glutaminsäure | | 0,06 g |
| | L-Asparaginsäure | | 0,05 g |
| | L-Tyrosin | | 0,02 g |
| | L-Phenylalanin | | 0,03 g |
| | L-Valin | | 0,04 g |
| 40 | Die vorgenannten Aminosäuren wurden in 2 N NaOH vorgelöst. | | |
| | Hippursäure | | 0,03 g |
| | p-Aminobenzoesäure | | 0,002 g |
| | Kreatinin | | 0,01 g |
| 45 | 7) Citronensäure | | 2,4 g |
| | Bernsteinsäure | | 1 g |
| | Milchsäure | | 5 g |
| 50 | 8) n-Methylglucamin | | 5 g |

- | | | | |
|----|---|---------|--|
| | 9) Ethanol (95%-ig) | 5 ml | |
| | 10) Natriumchlorid | 1,0 g | |
| | Natriumascorbat | 0,03 g | |
| 5 | 11) Chondriosomenextrakt (aus Hefe) dialysiert,
ultrafiltriert und sterilfiltriert,
Feststoffgehalt 0,25% | 3 ml | |
| 10 | 12) Spurenelemente gemäß Beispiel 1 und 3 | | |
| | 13) Serumalbumin-Fragmente Arg-Gly,
Arg-Gly-Val-Phe-Arg-Arg, Arg-Gly-Val-Phe,
Arg-Gly-Val-Phe-Arg | 0,01 mg | |

15 Die erhaltene Extraktlösung wurde auf einen pH-Wert von 6,7
eingestellt und mit bidestilliertem Wasser auf das Endvolumen
von 50 l gebracht. Anschließend wurde der pH-Wert nochmals kon-
20 trolliert und der Ansatz durch ein 0,2 µm Millipore-Filter abge-
füllt.

Folgende Analysedaten des synthetischen Serumextraktes wurden
ermittelt:

- | | | |
|----|---------------------------|---------------|
| 25 | pH-Wert: | 6,7 |
| | Stickstoffgehalt: | 1,5 mg/ml |
| | Trockenfeststoffgehalt: | 2,9 Gew. % |
| | Atmungssteigerungsfaktor: | 2,2 |
| | Peptidnachweis: | positiv |
| 30 | Sterilität: | keimfrei |
| | Stabilität: | über 3 Jahre. |

Mit dem auf diese Weise erhaltenen synthetischen Serumextrakt
wurde dessen Einfluß auf das Wachstum geschädigter Fibroblasten
35 nach der für Actihämyl beschriebenen Methode von W. Fraefel,
Forschungslaboratorien der Solco-Basel durchgeführt. Zur Bestim-
mung der DNA-Syntheseaktivität wurden die Einbauraten von Thymi-
din über einen Zeitraum von 6 Tagen an Kulturgruppen mit defi-
nierter Zellzahl gemessen:

40 Kontrollgruppe I ungeschädigte Fibroblasten und Epithelzellen

- Gruppe II mit CH₂O geschädigte Fibroblasten und Epithelzellen (reversibel geschädigt)
- 5 Gruppe III mit CH₂O geschädigte und durch Zusatz von synthetischem Serumextrakt behandelte Fibroblasten und Epithelzellen
- 10 Gruppe IV mit CH₂O geschädigte und durch Zusatz eines natürlichen Serumextraktes behandelte Fibroblasten und Epithelzellen

Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle III dargestellt.

15

Tabelle III

Thymidineinbaurate 1×10^3 /Minuten

20	<u>Gruppe</u>	<u>Tage</u>	<u>0</u>	<u>2</u>	<u>4</u>	<u>6</u>
	I Kontrolle		0	40	205	400
	II		0	8	10	10
	III synt. Serumextrakt		0	18	100	370
	IV		0	16	110	360

25

Die angegebenen Werte repräsentieren Mittelwerte aus jeweils 10 Versuchen. Die wiedergegebenen Ergebnisse zeigen deutlich, daß die durch CH₂O geschädigte Fibroblastenkultur sowohl mit dem natürlichen wie auch dem erfindungsgemäßen synthetischen Serum-

30 extrakt hinsichtlich ihrer DNA-Syntheserate der als Kontrolle dienenden Kulturgruppe I angepaßt werden konnte.

Bei der ausschließlichen Verwendung des leicht erhältlichen Dipeptids Arg-Gly anstelle aller der oben unter 13) genannten

35 Serumalbumin-Fragmente kann ein synthetischer Serumextrakt erhalten werden, dessen Wirksamkeit derjenigen des oben beschriebenen Extrakts ähnlich ist. Die Verwendung aller unter 13) ge-

nannten Serumalbumin-Fragmente führt jedoch zur vollen Entfaltung der oben im Vergleich zum natürlichen Serumextrakt beschriebenen Ergebnisse und ist erfindungsgemäß bevorzugt.

5

Beispiel 7

Synthetischer Kollagenextrakt

- 10 Eine Analyse der Aminosäurezusammensetzung eines Kollagenhydrolysats ergab folgendes Aminosäure-Spektrum:

Aminosäure-Spektrum		g AS/100 g Protein
15	Alanin	10,2
	Arginin	8,8
	Asparaginsäure	7,0
	Glutaminsäure	12,0
	Glycin	26,5
20	Histidin	1,5
	Hydroxylysin	1,1
	Hydroxyprolin	12,5
	Isoleucin	1,8
	Leucin	4,0
25	Lysin	4,4
	Methionin	0,5
	Phenylalanin	2,2
	Prolin	16,5
	Serin	3,7
30	Threonin	2,4
	Tyrosin	0,5
	Valin	2,9

- Es wurden 100 g der analytisch gefundenen Aminosäuren in ihren
 35 entsprechenden Gewichtsverhältnissen in 5 l bidestilliertem Wasser gelöst. Anschließend wurden dieser Lösung jeweils 10 g der Aminosäuren Glycin, L-Prolin, L-Hydroxyprolin, L-Arginin, L-Lysin und L-Serin zugegeben. Diese Lösung wurde insgesamt viermal hergestellt und mit jeweils einer der nachfolgend aufgeführten
 40 Peptidlösungen vereinigt und anschließend mit bidestilliertem Wasser auf ein jeweiliges Endvolumen von 6 l gebracht.

Peptidlösungen:

- 5 a) 30 g Pepton wurden in 900 ml Wasser gelöst und mit 10 g Aktivkohle behandelt, über Nacht gerührt und dann filtriert.
- 10 b) Peptidlösung, erhalten durch eine 6 Stunden lange Partialhydrolyse eines Peptons mit 2,5 N HCl im Rührautoklaven bei einer Temperatur von 110°C. Die Lösung wurde nach Abkühlen und Filtrieren durch Zugabe von NaOH auf eine Alkalität von 1 N NaOH gebracht und durch Dialyse entsalzt. Nach einer 24 Stunden langen Behandlung mit Aktivkohle wurde der pH-Wert der Lösung auf 6,0 eingestellt und sterilfiltriert, bevor das Partialhydrolysat aus Peptiden und Aminosäuren der Hauptlösung in einer Menge von 5 Gew.% zugegeben wurde.
- 15 c) Eine durch Partialhydrolyse von Peptonen mittels geeigneter Proteinasen hergestellte Peptidlösung wurde nach Dialyse mit NaOH auf einen pH-Wert von 8,5 eingestellt und 4 Tage lang bei einer Temperatur von 6°C gelagert. Anschließend wurde 20 die Lösung auf eine Alkalinität von 1 N NaOH gebracht und nach 90 Minuten auf einen pH-Wert von 6,4 eingestellt. Im Anschluß an eine Behandlung mit Aktivkohle, einer Entsalzung und einer Filtration wurde eine Peptidaminosäurelösung erhalten, die sterilfiltriert und der Grundlösung in einer 25 Menge von 5 Gew.% zugegeben wurde.
- 30 d) Unter Verwendung der Tripeptide Glutathion, Gly-Pro-His, Gly-Ala-Pro, Gly-His-Lys, Gly-Hyp-Pro, Gly-Pro-Ala, Gly-Lys-Pro, Gly-His-Arg, Gly-Lys-Lys, Gly-Lys-His, Gly-Gly-His, Gly-Arg-His und Gly-His-Hyp in einer Gesamtmenge von 1000 mg in bidestilliertem Wasser wurde eine synthetische Peptidlösung hergestellt, die sterilfiltriert und der Hauptlösung zugegeben wurde.
- 35 Den vier auf diese Weise erhaltenen Ansätzen von jeweils 6 l wurden dann die in Beispiel 1 unter (c) bis (g) und (i) genannten Komponenten zugegeben. Die Ansätze wurden anschließend ge-

trennt ultrafiltriert (Molgewicht unter 3000) und durch ein Millipore-Filter mit einer Maschenweite von 0,2 µm sterilfiltriert und in Vorratsgefäße abgefüllt.

- 5 Es zeigte sich, daß die Hautpflegeeigenschaften und die Eigenschaften der Zellaktivität und des Feuchtigkeitsgehaltes von Creme-Grundlagen unter Verwendung von 2 bis 5 Gew.% dieser synthetischen Kollagenextrakte, bezogen auf das Gesamtgewicht der Salbengrundlage, eindeutig verbessert werden konnten. Es wurde
- 10 eine Reihe von Creme-Grundlagen hergestellt, welche die folgenden Gewichtsteile enthielten:

	Cetanol	41 Gew. %
	Vaseline	14 Gew. %
15	Polyoxyethylenlaurylether	0,4 Gew. %
	Sorbitansequioleat	4 Gew. %
	synthetischer Kollagenextrakt	4 Gew. %
	Wasser	ad 100 Gew. %

- 20 Zum Nachweis der gesteigerten Zellaktivität wurden Zellkulturtests, Warburg-Versuche zur Zellatmung sowie Versuche zur Steigerung des Wachstums von Fibroblasten (vgl. Beispiel 6) durchgeführt.

25 Ergebnisse:

	Zellkulturtest: Klontest gemäß Beispiel 9	190%
	Atmungssteigerungsfaktor (Warburg):	2,2%
	Fibroblastenwachstum nach 6 Tagen	
30	(Thymidin-Einbaurate):	350 x 10 ³

- Erfindungsgemäß hat sich gezeigt, daß ein synthetischer Kollagenextrakt, der nur die unter d) genannten Tripeptide Glutathion, Gly-His-Lys und Gly-His-Arg, vorzugsweise Gly-His-Lys und
- 35 Gly-His-Arg, sowohl einzeln als auch in Kombination enthält, in seiner Wirksamkeit und seinen Eigenschaften dem in diesem Beispiel beschriebenen synthetischen Kollagenextrakt ähnlich ist.

Der optimale Effekt wird jedoch durch die Verwendung aller unter d) genannten Tripeptide erzielt und ist daher bevorzugt.

5

Beispiel 8

Synthetischer Bindegewebeextrakt

In einer wäßrigen Lösung, die 0,1% 4-Hydroxybenzoesäureester und
10 0,2% sorbinsaures Kaliumsalz enthält, wurden die folgenden Bestandteile in der angegebenen Reihenfolge gelöst, wobei sich die Mengen auf jeweils 1 l des Gesamtansatzes beziehen:

- 15 a) Glycin, Alanin, Prolin, Hydroxyprolin je 0,6 g
- Asparaginsäure, Serin, Glutaminsäure,
Lysin, Arginin je 0,3 g
- 20 Threonin, Valin, Methionin, Isoleucin,
Leucin, Phenylalanin, Histidin, Tyrosin je 0,08 g
- b) Peptide, die durch chemische Hydrolyse (NaOH, HCl)
von Gelatinepeptonen und 90 Minuten langes
Nachbehandeln mit 1 N NaOH, Entsalzung und
25 Ultrafiltration (Molgewicht unter 2000)
erhalten wurden 10 g
- c) Synthetische Peptidfragmente Glutathion,
Gly-Pro-His, Gly-Ala-Pro, Gly-His-Lys, Gly-Hyp-Pro,
30 Gly-Pro-Ala, Gly-Lys-Pro, Gly-His-Arg, Gly-Lys-Lys,
Gly-Lys-His, Gly-Gly-His, Gly-Arg-His und Gly-His-Hyp 1g
- d) Komponenten (c), (d), (e), (f), (g) und (i) gemäß
Beispiel 1.

35

Der auf diese erhaltene Ansatz wurde durch ein Millipore-Filter mit einer Maschenweite von 0,2 µm sterilfiltriert und es wurden

unter sterilen Bedingungen die folgenden hochmolekularen Binde-
gewebskomponenten hinzugegeben:

	Hyaluronsaures Natrium	2 g/l
5	Chondroitinsulfat (Natriumsalz)	17,5 g/l
	Keratinsulfat	1 g/l

Die genannten hochmolekularen Komponenten wurden vor Zugabe zu
dem Ansatz durch mehrfache Begasung mit Ethylenoxid und Nach-
10 spülen mit Stickstoff keimfrei gemacht. Diese Maßnahme ist er-
forderlich, um eine sterile Endlösung zu erhalten, da die Endlö-
sung aufgrund ihres Gehaltes an hochmolekularen Komponenten
nicht sterilisiert werden kann.

15 Bei der Analyse der synthetischen Bindegewebsextraktlösung wurde
die folgenden Daten ermittelt:

	pH-Wert	6,0
	Trockenstoffgehalt	6%
20	Stickstoffgehalt	0,9%
	Mucopolysaccharide	1,1%
	Schwermetalle	unter 20 ppm
	Sterilität	keimfrei

25 Ferner hat sich gezeigt, daß ein synthetischer Bindegewebssex-
trakt, der nur die unter c) genannten Tripeptide Glutathion und
Gly-His-Lys, vorzugsweise Gly-His-Lys enthält, in seiner Wirk-
samkeit und seinen Eigenschaften dem in diesem Beispiel be-
schriebenen synthetischen Kollagenextrakt ähnlich ist. Zur vol-
30 len Wirksamkeit tragen jedoch alle die unter c) genannten Tri-
peptide bei und ein derartiger Extrakt ist daher bevorzugt.

Beispiel 9

Synthetischer Organextrakt ohne Konservierungsmittel

5 Die Herstellung von synthetischen Organextrakten erfolgte gemäß vorstehender Beispiele, jedoch ohne Zusatz von Konservierungsmitteln und ohne Zusatz von Alkoholen. Überraschend ist jedoch, daß die auf diese Weise hergestellten synthetischen Organextrakte immer noch eine Haltbarkeit bzw. Stabilität von mehr als
10 2 Jahren aufwiesen. Insbesondere zeigten solche Präparate bei der Anwendung als kosmetische oder medizinische Additive eine stärkere Aktivität auf das Wachstum von Zellkulturen als die Konservierungsmittel enthaltenden Additive der genannten Beispiele:

15

I. Bei dem gemäß Beispiel 4 beschriebenen synthetischen Milzextrakt ohne konservierende Zusätze wurde unter Anwendung der im Beispiel 4 beschriebenen Methode eine starke Stimulanz auf die Zellproliferation ermittelt, wie in Fig. 1 zu
20 sehen ist. Die Fig. 2 zeigt im Vergleich dazu ein Explantat unter Einwirkung des gemäß Beispiel 4 hergestellten Additivs mit Konservierungszusätzen.

II. Mit Hilfe des Klontestes wurden die gemäß Beispiel 1, 3 und
25 6 hergestellten synthetischen Präparate mit und ohne Zusatz von Konservierungsmitteln und Zusätzen getestet:

Zur Durchführung des Klontests wurden Baby-Hamster-Kidney-Zellen (BHK-Zellen) in einer Zelldichte von 100 Zellen/Petrischale ausgesät. Das eingesetzte Nährmedium enthielt D-MEM + 1% NEAA + 1% Glutamin sowie fötales Kälberserum (10%-
30 ig) und wurde den Petrischalen in einem Gesamtvolumen von jeweils 5 ml zugegeben. Die Inkubationszeit betrug 6 Tage bei einer Temperatur von 37°C und einer CO₂-Atmosphäre von
35 6%. Die Ergebnisse des Klontests sind in der Tabelle 4 zusammengestellt.

Tabelle IV

<u>Präparat aus Beispiel</u>	<u>Klontest ohne</u>	<u>Klontest mit</u>
	<u>Konservierungsmittel</u>	
1	177 %	120 %
3	210 %	140 %
6	165 %	120 %
Kontrolle	100 %	100 %

Patentansprüche

1. Synthetischer wäßriger Organextrakt, der mindestens
- 5
- (a) eine Aminosäurekomponente mit monomeren Aminosäuren oder Aminosäurederivaten,
 - (b) eine Peptidkomponente,
 - (c) eine Nucleobase, eine Nucliosid-, Nucleotid- oder Nu-
 - 10 cleinsäurekomponente,
 - (d) eine Kohlenhydratkomponente und/oder eine Kohlenhydrat-
 - derivatkomponente,
 - (e) eine aliphatische Carbonsäure oder deren Salz mit 3 bis
 - 6 Kohlenstoffatomen,
 - 15 (f) einen aliphatischen und/oder aromatischen Alkohol mit
 - 2 bis 7 Kohlenstoffatomen,
- sowie gegebenenfalls
- 20 (g) Vitamine,
 - (h) Mineralsalze und/oder Spurenelemente,
 - (i) Puffersubstanzen und
 - (k) Konservierungsstoffe
- 25 enthält, dadurch gekennzeichnet, daß die Aminosäurekomponen-
- te (a) und die Peptidkomponente (b) eine oder mehrere der zu
- den Gruppen
- (I) Glycin, L-Prolin, L-Hydroxyprolin, L-Alanin,
 - 30 (II) L-Glutaminsäure, L-Asparaginsäure, L-Asparagin,
 - (III) L-Arginin, L-Serin, L-Lysin
- gehörenden Aminosäuren enthält, wobei sich der Extrakt zu
- mindestens
- 35
- 0,20 Gew.% aus Aminosäure(n) der Gruppe (I),
 - 0,05 Gew.% aus Aminosäure(n) der Gruppe (II) und

- 0,05 Gew.% aus Aminosäure(n) der Gruppe (III)
zusammensetzt, und
- 5 - die Komponente (c) mit einem Anteil von mindestens 0,02 Gew.%,
 - die Komponente (d), die mindestens einen Zuckeralkohol aus der Gruppe bestehend aus Sorbit, Mannit, Inosit und
10 Dulcit umfaßt, mit einem Anteil von mindestens 0,2 Gew.%,
 - die Komponente (e) mit einem Anteil von mindestens
15 0,2 Gew.%, und
 - die Komponente (f) mit einem Anteil von mindestens 0,3 Gew.%,
jeweils bezogen auf den Gesamtextrakt, in der synthetischen
20 Extraktlösung enthalten ist.
- 2. Synthetischer wäßriger Organextrakt nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Aminosäurekomponente (a) und die
25 Peptidkomponente (b)
 - 2 bis 6 Gew.% Aminosäuren der Gruppe (I),
 - 0,05 bis 0,15 Gew.% Aminosäuren der Gruppe (II) und
 - 0,10 bis 0,20 Gew.% Aminosäuren der Gruppe (III)
30 umfassen und
 - die Komponente (c) mit einem Anteil von 0,02 bis 0,06 Gew.%,
35 - die Komponente (d) mit einem Gesamtanteil an Sorbit, Mannit und Inosit von 3 bis 8 Gew.%,

- die Komponente (e) mit einem Anteil von 0,2 bis 0,7 Gew.% und
- die Komponente (f) mit einem Anteil von 0,3 bis 0,7 Gew.%

in der synthetischen Extraktlösung enthalten ist.

3. Synthetischer wäßriger Organextrakt nach den Ansprüchen 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Gruppe (I) Glycin mit einem Anteil von 1,5 bis 4,5 Gew.%, vorzugsweise 2,4 bis 3,6 Gew.%, enthält.
4. Synthetischer wäßriger Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Komponente (d) D-Mannit mit einem Anteil von 3 bis 7 Gew.%, vorzugsweise 4 bis 6 Gew.%, enthält.
5. Synthetischer wäßriger Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß als Komponente (g) mindestens D-Panthenol mit einem Anteil von 15 bis 50 Gew.%, vorzugsweise 24 bis 36 Gew.% in der synthetischen Extraktlösung enthalten ist.
6. Synthetischer wäßriger Organextrakt nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß er zusätzlich 0,8 bis 1,2 Gew.% D-Lactose-Monohydrat enthält.
7. Synthetischer wäßriger Organextrakt nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Aminosäurekomponente (a) und die Peptidkomponente (b) etwa
 - 0,2 bis 0,7 Gew.% Aminosäuren der Gruppe (I),
 - 0,05 bis 0,15 Gew.% Aminosäuren der Gruppe (II) und
 - 0,10 bis 0,20 Gew.% Aminosäuren der Gruppe (III)

umfassen und

- die Komponente (c) mit einem Anteil von 0,02 bis 0,06 Gew.%,
- 5 - die Komponente (d) mit einem Gesamtanteil an Sorbit, Mannit und Inosit von 0,2 bis 0,5 Gew.%,
- die Komponente (e) mit einem Anteil von 0,2 bis 0,7 Gew.% und
- 10 - die Komponente (f) mit einem Anteil von 0,3 bis 0,7 Gew.%,

jeweils bezogen auf den Gesamtextrakt, in der synthetischen Extraktlösung enthalten ist.

15

8. Synthetischer wäßriger Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß er Äpfelsäure und/oder Bernsteinsäure mit einem Anteil von 0,02 bis 1,5 Gew.% enthält.

20

9. Synthetischer wäßriger Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Komponente (b) Peptide aufweist, die mindestens eine der Aminosäuren ausgewählt aus Serin, Arginin, Lysin, Prolin und Hydroxyprolin enthalten.

25

10. Synthetischer wäßriger Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Komponente (b) Peptide aufweist, die mindestens zwei der Aminosäuren Serin, Arginin, Lysin, Prolin, Hydroxyprolin und Histidin, enthalten.

30

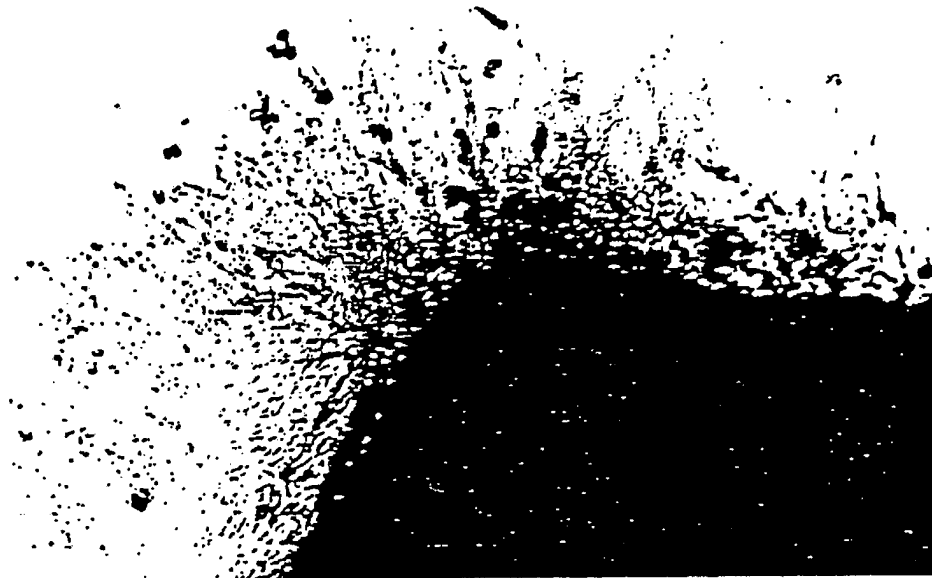
11. Synthetischer wäßriger Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Komponente (b) im wesentlichen Tri- bis Hexapeptide, Salze derselben und/oder Metallkomplexe derselben aufweist.

35

12. Synthetischer wäßriger Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß sich die Komponente (b) mindestens teilweise aus Peptonen zusammensetzt, welche aus der Gruppe bestehend aus Sojabohnenpepton, Maispepton, Haferpepton, Hefepeptiden und/oder von partiell dehydratisierter Hefe ausgewählt sind.
13. Synthetischer wäßriger Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß er monomere Aminosäuren aus der Gruppe bestehend aus Glycin, Prolin, Serin, Lysin, Arginin und Hydroxyprolin mit einem Anteil von 0,05 bis 5,0 Gew.% enthält.
14. Synthetischer wäßriger Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß er Hexite in einer Menge von 0,2 bis 8 Gew.% enthält.
15. Synthetischer wäßriger Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß die Alkohol-Komponente (f) Benzylalkohol, Glycerin und/oder Ethanol umfaßt.
16. Synthetischer wäßriger Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß die Komponente (c) Inosin, Adenin, Adenosin, Guanosin, cycl. AMP und/oder AMP umfaßt.
17. Synthetischer wäßriger Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, daß er frei von Konservierungsmitteln ist.
18. Synthetischer wäßriger Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 17, dadurch gekennzeichnet, daß der Trockenstoffgehalt der synthetischen Organextraktlösung 0,2 - 60 Gew.% beträgt.
19. Verwendung des synthetischen wäßrigen Organextraktes nach den Ansprüchen 1 bis 18 als Ersatz oder als Ergänzung für Placenta-, Thymus-, Blut-, Milz-, Leber-, Kollagen-, Binde-

gewebs-, Amnionflüssigkeits-, Quallen-, Rogen- und Euterextrakte bzw. für deren Kombinationen.

- 5 20. Verwendung des synthetischen wäßrigen Organextraktes nach den Ansprüchen 1 bis 18 zur Herstellung einer kosmetischen Formulierung.
- 10 21. Verwendung einer Kombination aus zwei oder mehreren synthetischen wäßrigen Organextrakten nach den Ansprüchen 1 bis 18 zur Herstellung einer kosmetischen Formulierung.
- 15 22. Verwendung des synthetischen wäßrigen Organextraktes nach den Ansprüchen 1 bis 18 zur Herstellung eines medizinischen Präparates zur topischen, subkutanen oder intramuskulären Applikation für die Zwecke der äußeren oder inneren Wundheilung.
- 20 23. Verwendung des synthetischen wäßrigen Organextraktes nach den Ansprüchen 1 bis 18 zur Herstellung eines medizinisches Präparates zur Stärkung des Immunsystems.
- 25 24. Verwendung des synthetischen wäßrigen Organextraktes nach den Ansprüchen 1 bis 18 zur Herstellung eines medizinischen Präparates zur Aktivierung des Zellstoffwechsels.
- 25 25. Verwendung des synthetischen wäßrigen Organextraktes nach den Ansprüchen 1 bis 18 zur Herstellung eines medizinischen Präparates zur Behandlung gastroenterologischer Erkrankungen, insbesondere Ulcera.



Figur 1: Gastro-Explantat unter dem Einfluß der gemäß Beispiel 4 hergestellten synthetischen Organ-extraktlösung ohne Konservierungsmittel



Figur 2: Gastro-Explantat unter dem Einfluß der gemäß Beispiel 4 hergestellten synthetischen Organ-extraktlösung mit Konservierungsmittel

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/DE 92/01028

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 5 A61K35/50; A61K35/55 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 5 A61K Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DE,A,2 405 983 (BÖTTGER KG PHARMAZEUTISCHE UND KOSMETISCHE PRÄPARATE) 14 August 1975 cited in the application see the whole document	1-25
A	DE,A,2 338 970 (BÖTTGER KG PHARMAZEUTISCHE UND KOSMETISCHE PRÄPARATE) 27 February 1975 cited in the application see the whole document	1-25
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 15 April 1993 (15.04.93)		Date of mailing of the international search report 04 May 1993 (04.05.93)
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office Facsimile No.		Authorized officer Telephone No.

**ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.**

DE 9201028
SA 67490

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report.
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information. 15/04/93

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE-A-2405983	14-08-75	JP-C- 1194752	12-03-84
		JP-A- 50107117	23-08-75
		JP-B- 55038929	07-10-80
DE-A-2338970	27-02-75	JP-A- 50036615	05-04-75

EPD FORM P079

For more details about this annex : see Official Journal of the European Patent Office, No. 12/82

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 92/01028

I. KLASSEIFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben) ⁶		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC Int.Kl. 5 A61K35/50; A61K35/55		
II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff ⁷		
Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole	
Int.Kl. 5	A61K	
Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen ⁸		
III. EINSCHLAGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN ⁹		
Art. ⁹	Kennzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile ¹²	Betr. Anspruch Nr. ¹³
A	DE,A,2 405 983 (BÖTTGER KG PHARMAZEUTISCHE UND KOSMETISCHE PRÄPARATE) 14. August 1975 in der Anmeldung erwähnt siehe das ganze Dokument	1-25
A	DE,A,2 338 970 (BÖTTGER KG PHARMAZEUTISCHE UND KOSMETISCHE PRÄPARATE) 27. Februar 1975 in der Anmeldung erwähnt siehe das ganze Dokument	1-25
<p>⁹ Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen ¹⁰ :</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"I" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>"A" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p>		
IV. BESCHEINIGUNG		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absenddatum des internationalen Recherchenberichts	
15. APRIL 1993	04.05.93	
Internationale Recherchenbehörde	Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten	
EUROPAISCHES PATENTAMT	AVEDIKIAN P.F.	

**ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.**

DE 9201028
SA 67490

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentedokumente angegeben.
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

15/04/93

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE-A-2405983	14-08-75	JP-C- 1194752	12-03-84
		JP-A- 50107117	23-08-75
		JP-B- 55038929	07-10-80
DE-A-2338970	27-02-75	JP-A- 50036615	05-04-75

RPD FORM P003

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82